



Josélia Maria Gião Punilhas Monteiro

Licenciada em Osteopatia

Licenciada em Fisiologia de Micronutrientes

Caracterização dos componentes voláteis das folhas e flores de *Moringa oleifera* cultivada em Portugal e avaliação do perfil nutricional

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Fitotecnologia Nutricional para a Saúde Humana

Orientador: Prof. Doutor Fernando Henrique da Silva
Reboredo, Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade Nova de Lisboa

Co-orientador: Prof. Doutora Ana Cristina da Silva
Figueiredo, Faculdade de Ciências da Universidade de
Lisboa

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Maria Fernanda Guedes Pessoa
Arguente(s): Prof. Doutora Ana Maria Ferreira da Costa Lourenço
Vogal: Prof. Doutora Ana Cristina da Silva Figueiredo



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Abril 2020

CARACTERIZAÇÃO DOS COMPONENTES VOLÁTEIS DAS FOLHAS E FLORES DE *Moringa oleifera* CULTIVADA EM PORTUGAL E AVALIAÇÃO DO PERFIL NUTRICIONAL

Copyright © Josélia Maria Gião Punilhas Monteiro, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a todos aqueles que colaboraram para que este projeto fosse concluído. Apesar de ter sido idealizado e esboçado atempadamente, ocorreram percalços que me obrigaram a repensar e reorganizar todo o trabalho e a adiar a entrega. O meu bem haja a todos pela importantíssima ajuda.

Em primeiro lugar, agradeço à minha amiga, médica de profissão, Doutora Dulce Viegas, que me apresentou o seu projeto pessoal e que manifestou o desejo da minha colaboração no estudo, na caracterização da *Moringa oleifera* em Sousel. Com toda a sinceridade devo dizer que nem conhecia a espécie em questão.

Agradeço ao Professor Doutor Fernando Reboredo pela orientação, empenho e disponibilidade prestada ao longo de todo este caminho que percorri e que apesar alguns constrangimentos em época de pandemia, conseguiu proporcionar a conclusão de todos os itens desta dissertação.

Agradeço à Professora Doutora Ana Cristina Figueiredo da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, pela sua extraordinária orientação e incansável apoio no decorrer de todos os processos e que tornou possível a concretização de parte da dissertação. Criou as condições necessárias para a sua realização e contribuiu para a minha aprendizagem durante todo o estágio.

Gostaria também de agradecer aos meus colegas da CEMINT (Clínica de Medicina Integrativa) por todo o apoio, principalmente na fase final em todos nos encontrávamos em confinamento devido à COVID 19.

Às minhas colegas agradeço pela ajuda em diversas etapas no decorrer deste Mestrado e em muito contribuíram para o minha formação pessoal e académica.

Por último agradeço à minha família, principalmente ao meu marido pelo apoio incondicional, aos meus três filhos pela enorme capacidade de adaptação, aos meus pais que ao longo da vida me ensinaram a ser persistente, lutar para atingir os objetivos e nunca desistir por muito difícil que pareça.

ÍNDICE GERAL

CONTEÚDO

Agradecimentos	v
ÍNDICE GERAL	vii
Índice das Figuras	ix
Índice das Tabelas e Quadros	xi
Lista de siglas e abreviaturas	xiii
Resumo	xvii
Abstract.....	xix
1. Introdução	1
1.1. Importância dos óleos essenciais	2
1.2. Importância da análise elementar	4
1.2.1 A importância dos macro e micronutrientes na fisiologia humana	5
1.3. A importância do perfil nutricional	8
2. Material e Métodos	9
2.1. Localização da estufa	9
2.2. Material vegetal	12
2.3. Extração e análise de voláteis	12
2.3.1. Extração de voláteis	12
2.3.2. Cromatografia Gasosa e Cromatografia Gasosa acoplada a Espetrometria de Massa ..	14
2.4. Análise elementar	15
2.4.1- Fluorescência de raios-X por dispersão de energia (EDXRF).....	16
2.4.2 Preparação das amostras	18
2.5. Perfil nutricional	19
2.5.1 Extração dos lípidos totais.....	19
2.5.2 Cromatografia Gasosa com Detetor de Ionização de Chama (GC-FID)	19
3. Resultados e Discussão.....	21
3.1 Crescimento da <i>Moringa oleifera</i>	21
3.1.1 Caracterização do solo	21
3.1.2 Crescimento da <i>Moringa oleifera</i>	24
3.2 Voláteis.....	28

3.3 Análise elementar	32
3.4 Perfil nutricional.....	39
4. Conclusão e perspectivas futuras	43
5. Referências Bibliográficas.....	45
anexos	51

ÍNDICE DAS FIGURAS

Figura 1.1 - Mapa da distribuição da plantação de *M. oleifera* no Mundo.

Figura 2.1 a) Mapa de localização da estufa; b) Fotografia do exterior da estufa; c) e d) Fotografia do interior da estufa.

Figura 2.2 a) - Representação esquemática do concelho de Sousel no *Maciço calcário Estremoz-Borba-Vila Viçosa*, (adaptado de Sousa, 2015). b) Localização das estufas por coordenadas GPS, no Google Maps (2020).

Figura 2.3 a) Sistema de rega gota-a-gota; b) Dimensões da cavidade da sementeira; c) Sementes de MO (\approx 4-8 mm).

Figura 2.4 - Aparelho de *Clevenger*, processo de hidrodestilação de *M. oleifera*, a) sementes, b) Folhas, pequenos caules e flores.

Figura 2.5 a) Processo de concentração da amostra. Voláteis de b) sementes, c) folhas e pequenos caules, e d) flores.

Figura 2.6 a) Cromatógrafo Clarus 400 GC-FID; b) Cromatógrafo Clarus 600 acoplado à Espectrometria de Massa Clarus 600T GC-MS.

Figura 2.7 – *M. oleifera*, a) Folhas secas; b) Folhas trituradas; c) Flores secas; d) Flores trituradas.

Figura 2.8 - Esquema genérico de XRF.

Figura 3.1 - Localização da estufa, adaptação de “Caracterização de Portugal Continental” (Ferreira, 2000).

Figura 3.2 - Crescimento da *M. oleifera* em 2018; a) abril; b) maio; c) maio, vista geral; d) junho; e) julho.

Figura 3.3.a) Corte da plantação de *M. oleifera*, no final de julho 2018; b) 1 mês após o corte; c) 2 meses após corte.

Figura 3.4 - Aparência da *M. oleifera* em outubro e novembro 2018.

Figura 3.5 a) Aspeto da plantação de *M. oleifera* em abril/maio de 2019; b) o início da floração.

Figura 3.6 - Após a colocação da rede de proteção no solo da estufa.

Figura 3.7 - Desenvolvimento e floração da *M. oleifera* de maio até novembro de 2019.

Figura 3.8 - Perfis cromatográficos em GC-FID, dos OEs isolados das a) flores; b) folhas; e c) sementes de *M. oleifera*.

Figura 3.9 - Perfis cromatográficos em GC-FID dos ácidos gordos das a) flores; b) folhas de *M. oleifera*.

Figura a 2.1 - Registo da amplitude térmica entre abril 2018 e outubro de 2019, no distrito de Portalegre.

Figura a 2.2 – Registo da precipitação entre abril de 2018 e outubro de 2019, no distrito de Portalegre.

Figura a 2.3 – Registo da humidade relativa entre abril de 2018 e outubro de 2019, no distrito de Portalegre.

Figura a 2.4 - Documento de certificação das sementes de *Moringa oleifera*, referente à aquisição das sementes para plantação na estufa.

Figura a 2.5 - Fotografias referentes à localização dos 5 pontos e coordenadas GPS, onde se recolheram amostras para análise.

ÍNDICE DAS TABELAS E QUADROS

Tabela 3.1 - Composição elementar do solo nos diferentes locais de amostragem.

Tabela 3.2 - Análise comparativa relativamente aos elementos-traço entre o intervalo de valores das amostras de solo e dados da literatura (de acordo com Kabata-Pendias).

Tabela 3.3 - Registo do crescimento mensal da *M. oleifera* em 2018.

Tabela 3.4 – Composição percentual dos óleos essenciais isolados de diferentes partes de *Moringa oleifera*.

Tabela 3.5 - Dados da literatura referente à composição de diferentes tipos de extratos de *Moringa oleifera*.

Tabela 3.6 - Composição elementar de flores e folhas de *M. oleifera*.

Tabela 3.7 - Dados da literatura referente à composição elementar de flores e folhas de *M. oleifera*.

Tabela 3.8 - Comparação entre as concentrações do presente trabalho e as concentrações adequadas para a maioria dos tecidos vegetais.

Tabela 3.9 – Composição total e relativa dos ácidos gordos das flores e folhas de *Moringa oleifera*.

Tabela 3.10 – Dados da literatura referente às frações lipídicas das flores e folhas de *M. oleifera*.

Tabela a 2.1 - Análise prévia à água para rega utilizada no sistema gota-a-gota implementado na estufa realizada em novembro de 2017.

Tabela a 2.2 - Análise prévia à composição do solo realizada em novembro de 2017.

Tabela a 2.3 - Interpretação dos resultados das análise prévias ao solo em 2017.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADN – Ácido desoxirribonucleico.

AG – Ácidos gordos.

AGT – Ácidos Gordos Totais

ARN – Ácido ribonucleico.

ATP – Adenosina trifosfato.

B – Boro.

C8:0 – Ácido caprílico.

C10:0 – Ácido cáprico.

C12:0 – Ácido láurico.

C14:0 – Ácido mirístico.

C16:0 – Ácido palmítico.

C16:1 – Ácido palmitoleico.

C17:0 – Ácido heptadecanóico.

C18:0 – Ácido esteárico.

C18:1 – Ácido oleico.

C18:2 – Ácido linoleico.

C18:3 – Ácido linolénico.

C – Celsius.

Ca – Cálcio.

CBV – Centro de Biotecnologia Vegetal.

cm -centímetro.

Cu – Cobre.

CYP450 – Citocromo P450.

DBI – *Double Bond Index* (grau de insaturação).

d.i. – diâmetro interno.

EDXRF – Espectrometria de fluorescência de raios X por dispersão de energia.

ELA – Esclerose lateral amiotrófica.

ERO – Espécie reativa de oxigénio.

eV – eletrão volt.

Fe – Ferro.

g – grama.

GC-FID – Cromatografia Gasosa por Detetor de Ionização de Chama.

GC-MS – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa.

GPS – Sistema de Posicionamento Global.

GSH – Glutathione.

h – hora.

HD – Doença de Huntington.

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária.

IR – índice de retenção.

K – Potássio.

KeV – Kilo eletrão volt.

Kg – Quilograma.

IL – Interleucinas.

iNOS – Óxido nítrico-sintetase induzida.

L – litro.

LT – Lípidos totais.

M – *Moringa*.

m – metro.

m² – metro quadrado.

Mg – Magnésio.

mg – miligrama.

mim – minuto.

mL – mililitro.

mm – milímetro.

Mn – Manganês.

Mo – Molibdénio.

MO – *Moringa oleifera*.

MUFAs – Ácidos gordos monoinsaturados.

NF-κB – Complexo proteico que desempenha funções como fator de transcrição.

OE – óleo essencial.

P – Fósforo.

p.f. – peso fresco.

pH – escala numérica para especificar a acidez ou alcalinidade de uma solução, definindo-se como o logaritmo da atividade dos iões hidrogénio (H⁺)

p.s. – peso seco.

PUFAs – Ácidos gordos polinsaturados.

S – Enxofre.

s – segundo.

SOD – Superóxido dismutase.

T₄ – Tiroxina.

TPM – Tensão pré-menstrual.

μm – micrómetro.

μA – microampere.

μg – micrograma.

μL – microlitro.

μS – microSiemens.

u – unidade de massa atómica.

v – volume.

v/p – volume/peso.

XRF – Florescência de raio X.

Zn – Zinco.

RESUMO

A *Moringa oleifera* Lam. é uma espécie da família das *Moringaceae*, nativa da região sub-Himalaias, do norte da Índia, Paquistão, Bangladech e Afeganistão. O seu cultivo está espalhado um pouco por todo o mundo e atualmente em mais de 30 países. Citada em muitos estudos como uma das plantas mais úteis no mundo pelo seu valor nutricional e fitoquímico, particularmente pela qualidade e quantidade proteica, sendo por isso indicada a sua utilização no combate à subnutrição. Todas as partes da *M. oleifera* possuem propriedades nutricionais e medicinais, sendo uma importante fonte de proteínas, vitaminas, minerais e fitonutrientes. As folhas são a parte da planta mais utilizada sendo a sua aplicabilidade extremamente variada, com referências de utilização em praticamente todas as áreas da medicina e outras utilitárias. A plantação em Sousel é a única em Portugal e a única em estufa, tanto quanto sabemos. A análise e o isolamento dos óleos essenciais de *M. oleifera*, revelou que o grupo dominante é o dos alcanos, em que se destacam o pentacosano, o heptacosano e o nonacosano. No que diz respeito aos ácidos gordos o ácido hexadecanóico é o componente dominante. Relativamente à análise elementar, podemos dizer que as folhas de *M. oleifera* podem constituir uma importante fonte de cálcio, ferro, enxofre e manganês; sendo que as flores de *M. oleifera* são também uma excelente fonte de potássio. As análises de perfil lipídico das diferentes partes da planta evidenciaram um alto teor de ácidos gordos polinsaturados (PUFAs), baixo teor de ácidos gordos monoinsaturados (MUFAs) e ácidos gordos saturados, o que pode contribuir para a modulação das doenças inflamatórias.

Palavras-chave: análise elementar; *Moringa oleifera*; óleos essenciais; perfil nutricional.

ABSTRACT

The *Moringa oleifera* Lam. is a species of *Moringaceae* family, native to the sub-Himalayan region, northern India, Pakistan, Bangladesh, and Afghanistan. Its cultivation is spread all over the world and currently in more than 30 countries. Cited in many studies as one of the most useful plants in the world for its nutritional and phytochemical value, particularly for the quality and quantity of protein, thus being indicated in combating malnutrition. All parts of *M. oleifera* have nutritional and healing properties, being one of the biggest sources of proteins, vitamins, minerals and phytonutrients. The leaves are the most used plant part, and their application is extremely variable, with references of use in practically all areas of medicine. The greenhouse plantation in Sousel is unique in Portugal and the first one, as far as we know. The analysis and isolation of the essential oils of *M. oleifera*, revealed that the dominant group is that of alkanes, in which pentacosane, heptacosane and nonacosane stand out. Regarding fatty acids hexadecanoic acid is the dominant component. In what concerns the elementary analysis *M. oleifera* leaves can be an important source of calcium, iron, sulfur and manganese; the *M. oleifera* flowers are also an excellent source of potassium. The analysis of the lipid profile of the different parts of the plant showed a high content of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), low content of monounsaturated fatty acids (MUFAs) and saturated fatty acids, which can contribute to the modulation of inflammatory diseases.

Keywords: elementar analysis; essencial oils; *Moringa oleifera*; nutritional profile.

1. INTRODUÇÃO

A *Moringa oleifera* Lam. é uma de 13-14 espécies da família das *Moringaceae*, nativa da região sub-Himalaias, norte da Índia, Paquistão, Bangladesh e Afeganistão. É a espécie mais cultivada e encontra-se espalhada um pouco por todo o mundo em especial pela região tropical e subtropical de África, sul da Ásia, sul da América, Filipinas e Caraíbas (Fahey, 2005; Passos et al., 2012; Vinoth et al., 2012; Saini et al., 2016; Oyeyinka e Oyeyinka, 2018), sendo também a mais estudada (Stadtlander & Becker, 2017).

Atualmente a *M. oleifera* (MO) é cultivada em mais de 30 países (Liang et al., 2019). É uma espécie perene, o seu crescimento é rápido e pode atingir 10 a 15 metros de altura em poucos meses, o tronco pode atingir um diâmetro de 20-40 cm (Saa et al., 2019) e é de fácil cultivo (Bhattacharya et al., 2018). A *M. oleifera* desenvolve-se idealmente com uma temperatura de 25 a 35° C, sob sol direto a 500 metros de altitude e num solo ligeiramente ácido a alcalino (pH 5.0-9.0). No entanto, pode tolerar temperaturas extremas, acima de 48° C, geadas no inverno, adaptar-se a outras altitudes e a grande variedade na composição de solos (Saini et al. 2016; Tesfay et al., 2016). As flores são brancas e perfumadas, os frutos aparecem duas vezes por ano e as vagens podem ter 30-45 cm de comprimento (Anwar e Bhanger, 2003).

Todas as partes da MO possuem propriedades nutricionais e medicinais (Nair e Roopalatha, 2013). É cultivada ao redor das populações na área tropical de África, sendo usada na alimentação humana e animal, na medicina tradicional, em cosméticos, na indústria e no tratamento da água. Citada como uma das plantas mais úteis do mundo, estudos mostram que diferentes partes desta planta são uma fonte de proteína, vitaminas, todos os aminoácidos essenciais, elementos minerais e compostos fenólicos (Haouvang et al., 2017; Liang et al., 2019), sendo uma importante fonte alimentar no combate à subnutrição especialmente em crianças e jovens (Leone et al., 2015; Oyeyinka e Oyeyinka, 2018), para além das suas propriedades profiláticas (Fahey, 2005). As folhas da MO são as partes da planta mais utilizadas, são reportadas como fonte importante de vitaminas A, C e E, para além de polifenóis, proteínas, cálcio, potássio, magnésio, ferro, manganês e cobre. Sendo também uma boa fonte de fitonutrientes como glucosinolatos, carotenóides, tocoferóis, ácidos fenólicos e ácido ascórbico que são essenciais no combate aos radicais livres quando associados a uma alimentação equilibrada (Fahey, 2005; Leone et al., 2015; Oyeyinka e Oyeyinka, 2018).

Recentemente a utilização da *M. oleifera* tem aumentado nas zonas onde é nativa tal como nas

outras regiões (Fig. 1.1), para além da crescente utilização na fortificação dos alimentos. A aplicação pode ser muito variada desde a ração para animais, em farinhas, sopas, pão, bolos e iogurtes (Ijarotimi et al., 2013; Bolarinwa et al., 2017; Oyeyinka e Oyeyinka, 2018). Esta planta é utilizada pelos povos desde a antiguidade, nomeadamente Romanos, Gregos e Egípcios que extraíam o óleo das sementes e usavam em perfumes e loções corporais (Ijarotimi et al., 2013).

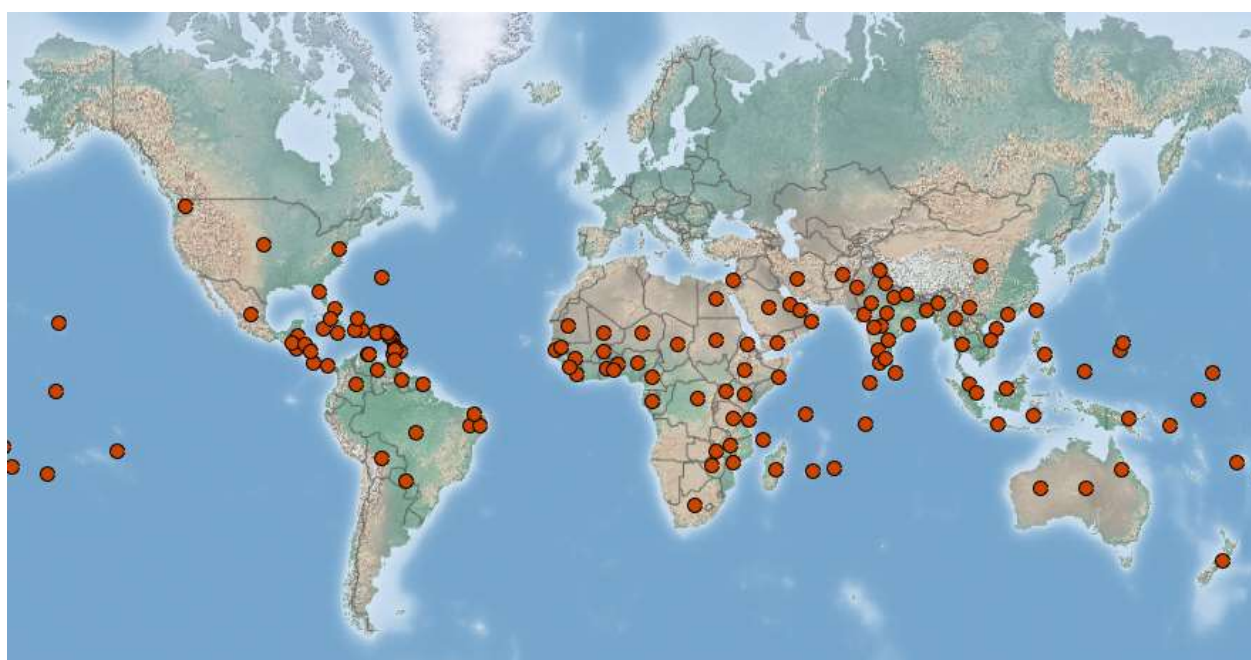


Fig. 1.1 - Mapa da distribuição da plantação da *M. oleifera* no Mundo.
(Fonte: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/34868>)

1.1. Importância dos óleos essenciais

Os óleos essenciais são os princípios odoríferos voláteis, geralmente misturas de inúmeros compostos com características físico-químicas distintas, são produzidos pelas plantas e pertencem a vários grupos químicos que combinados conferem um odor próprio ao óleo. São praticamente insolúveis em água, mas solúveis em solventes orgânicos e em gorduras. O diferente aroma deve-se, principalmente à concentração e volatilidade dos seus constituintes. Os óleos essenciais são constituídos, principalmente por terpenos (mono-, sesqui-, e diterpenos), alcalóides e substâncias fenólicas (Figueiredo et al., 2007).

De acordo com a Norma ISO 9235:2013 da *International Organization for Standardization on Essential Oils* (ISO/TC 54), e da sua equivalente portuguesa NP EN ISO 9235:2016 do IPQ-CT5, óleo essencial define-se como o produto obtido a partir da matéria-prima natural de origem vegetal, quer por destilação por arrastamento de vapor de água, ou por processos mecânicos no caso do epicarpo de citrinos.

A indústria farmacêutica recorre a alguns óleos essenciais (OEs) para isolar compostos naturais que servem de base à semissíntese de outras moléculas. A sua utilização como fármacos ativos ou como adjuvantes na preparação de medicamentos, quer na medicina convencional quer nas medicinas complementares. Algumas atividades biológicas dos OEs decorrem da sua interação com funções e mecanismos da fisiologia humana que justificam a sua utilização para fins medicinais, quer por administração direta de OEs, quer pela sua inclusão em formulações medicamentosas. Neste âmbito, são muitas as atividades farmacodinâmicas atribuídas aos OEs e que decorrem da inúmera variedade e diversidade das suas composições químicas, destinados à perfumaria, cosmética, indústria alimentar, química e farmacêutica. (Cavaleiro, 2007).

De uma forma geral, foram identificados mais de três mil OEs, dos quais cerca de um décimo são relevantes para a indústria farmacêutica, nutricional ou cosmética. Na área da investigação, vários OEs têm grande interesse pela sua capacidade citotóxica, para além de que há interesse investigar os potenciais efeitos terapêuticos dos OEs no combate às várias doenças, especialmente aquelas caracterizadas por crescimento e proliferação celular excessiva, como cancro ou infeção bacteriana. As propriedades citotóxicas resultam da interação complexa entre as diferentes classes de compostos como fenóis, aldeídos, cetonas, álcoois, ésteres, éteres ou hidrocarbonetos (Bakkali et al., 2008; Bayala et al., 2014; Russo et al., 2015). A grande variedade do perfil químico dos OEs justifica a grande diversidade nos mecanismos de ação e nos alvos moleculares, para além de que cada composto pode modular ou alterar os efeitos de outros. As atividades biológicas dos OEs, nomeadamente atividades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígenas foram demonstradas em vários modelos de células e animais. No entanto, a escassez de estudos *in vivo/in vitro*, limita o potencial dos OEs como agentes fitoterapêuticos eficazes e seguros (Sharifi-Rad et al., 2017).

O excesso de espécies reativas de oxigénio (ERO), pode levar à peroxidação lipídica, glicação/oxidação/nitração de proteínas, inativação de enzimas, dano de ADN e outras alterações nos organelos celulares. A oxidação e a deterioração dos alimentos causada por microrganismos constituem uma das questões mais importantes da indústria alimentar. Alguns OEs demonstraram a

sua eficácia contra vários patógenos transmitidos por alimentos *in vitro*, podem ser aplicados nos alimentos para melhorar a segurança microbiológica, para além da ação imunomoduladora. Esta ação pode ser atribuída à capacidade de modificar a secreção de citocinas provavelmente pela regulação de NF- κ B, ou pela capacidade de afetar a expressão celular de iNOS e a secreção de prostaglandinas, nomeadamente tromboxano e leucotrienos (Valdivieso-Ugarte et al., 2019).

Sendo atribuída, às diferentes partes da *M. oleifera*, atividade biológica na mitigação de inúmeras patologias da sociedade, há interesse no isolamento e identificação dos OEs. Posteriormente esses OEs podem ser utilizados para estudos de possível atividade biológica.

1.2. Importância da análise elementar

Desde a antiguidade que se sabe da importância da nutrição para a saúde humana, sendo de extrema relevância o seu profundo conhecimento para estabelecer o equilíbrio entre os nossos sistemas orgânicos e dessa forma contribuir para a mitigação dos riscos de diversas doenças.

A nutrição funcional compreende a relação entre os diferentes sistemas ao avaliar sinais e sintomas de acordo com a individualidade bioquímica de cada indivíduo.

As doenças crónicas não transmissíveis que incidem na sociedade estão associadas a desequilíbrios metabólicos em que ocorre um acentuado aumento da inflamação, deficit energético, deficiências nutricionais, entre outras. Como é do conhecimento da maioria da população, uma das principais causas está relacionada com o estilo de vida e as escolhas alimentares, sendo que, o estado emocional representa um ponto muito importante neste mecanismo pois o aumento do stress tem influência a nível do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, o que altera os níveis de cortisol. Esta hormona está relacionada com vários desequilíbrios sistémicos, inflamação, sistema imunológico, defesa e reparo, microbiota intestinal, função mitocondrial (Souza et al., 2016).

Toda a função do sistema digestivo pode assim ser influenciada o que contribui para uma diminuição da absorção dos nutrientes, aumentando dessa forma o risco de deficiências nutricionais.

Nesta perspetiva, podemos dizer que é de extrema importância estudar a composição elementar, para que através do conhecimento aprofundado se possa adequar a cada indivíduo a melhor forma de resolver os diversos desequilíbrios existentes e contribuir para combater as

deficiências de macro e micronutrientes existentes na população, e que são características de determinadas patologias.

A análise de macro e micronutrientes nas folhas e flores de *Moringa oleifera* foram determinadas através de fluorescência de raios-X por dispersão de energia (EDXRF), um método de determinação rápida e não destrutiva, vulgarmente usado em material biológico.

1.2.1 A importância dos macro e micronutrientes na fisiologia humana

Aproximadamente 99 % do cálcio presente no nosso organismo encontra-se armazenado nos ossos, o restante nas células e no sangue (Guimarães et al., 2014). Ele é fundamental para o funcionamento neuromuscular, metabolismo celular, como segundo mensageiro, transdução de sinal, cascata da coagulação e ritmo cardíaco normal (Paschoal et al., 2008; Frayn, 2012; Guimarães et al., 2014)). Está ainda envolvido na libertação de catecolaminas e na produção de serotonina (Olszewer, 2008). Quando não é ingerido em quantidade suficiente, face às necessidades, o organismo mobiliza o Ca dos ossos para o sangue, contribuindo desta forma para a desmineralização (Devlin, 2011). O metabolismo do Ca e a manutenção da sua concentração plasmática, está dependente da sua ingestão alimentar e das ações de três hormonas: a PTH e a vitamina D (que aumentam a calcemia), e a calcitonina, que determina a hipocalcemia (Passeri et al., 2009; Devlin, 2011; Guimarães et al., 2014).

O enxofre é um elemento constituinte de aminoácidos essenciais, como a metionina, sendo fundamental para a síntese de cisteína, taurina e está envolvido na formação da bÍlis. Intervém na função anti-inflamatória e antioxidante, ou seja, no combate aos radicais livres, para além do importante papel na detoxificação do organismo através da glutathione (Devlin, 2011). A glutathione (GSH) é um tripeptÍdeo essencial que está presente em todos os tecidos dos mamÍferos, é formado por cisteína, glicina e glutamato, modula diversos processos celulares. Há evidências concretas de que a desregulação da síntese de GSH contribui para a patogénese de algumas doenças, como por exemplo: diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), fibrose pulmonar e hepática, resistência medicamentosa nas células tumorais (Lu, 2013).

O fósforo é um elemento essencial nas membranas celulares onde se integra os fosfolÍpidos, sendo parte fundamental das moléculas de ATP, enzimas e vitaminas. A atividade das enzimas, por outro lado, está dependente de ATP, tal como grande parte da fisiologia celular (Devlin, 2011; Frayn, 2012). As membranas celulares são constituÍdas por fosfolÍpidos onde o equilÍbrio entre os ácidos

gordos polinsaturados (PUFAs) omega 3 e omega 6 está associado a situações patológicas, como doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (Diaz e Retamal, 2018). Cerca de um terço das proteínas celulares contêm fosfato. Anomalias relacionadas com a fosforilação das proteínas estão associadas a várias patologias, nomeadamente diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), neoplasias, entre outras (Frayn, 2012).

O potássio é também um elemento fundamental para o funcionamento normal das células, nervos e músculos, normalmente presente no interior das células e no sangue em determinadas concentrações. Regula a atividade elétrica contribuindo para os batimentos cardíacos e para a atividade muscular das células nervosas (Paschoal et al., 2008; Stone et al., 2016). A regulação rigorosa da homeostasia do potássio é essencial para uma vasta gama de processos fisiológicos vitais, como o potencial de membrana em repouso e a propagação de potenciais de ação no tecido neuronal, muscular e cardíaco, juntamente com a secreção e ação das hormonas, tónus vascular, controle da pressão arterial sistémica, motilidade gastrointestinal, homeostasia ácido-base, metabolismo da glicose e insulina, ação mineralocorticóide e equilíbrio eletrolítico. Os pacientes com hipocalémia ou hipercalemia têm uma taxa aumentada de morte por qualquer causa (Gumz et al., 2015). O potássio é um nutriente já identificado como deficiente na população e sendo um fator bem estabelecido para hipertensão e o maior risco para as doenças crónicas mais comuns (Stone et al., 2016; Rodan, 2017).

Não menos importantes, os micronutrientes que se seguem (Zn, Fe e Mn) atuam em sinergia com Ca e P (Kabata-Pendias, 2011). O zinco é essencial para a atividade de mais de 300 enzimas e tem um papel fundamental na função imunológica, síntese das proteínas ADN e ARN, metabolismo dos hidratos de carbono e lípidos (Paschoal et al., 2008; Sanna et al., 2018). Participa nos processos que medeiam o metabolismo de algumas vitaminas, envolvido na cicatrização de feridas, divisão celular e apoptose, libertação de hormonas, transmissão de impulsos nervosos e facilita a ação da insulina (Paschoal et al., 2008; Guimarães et al., 2014; Lin et al., 2017). Contribui ainda para o normal crescimento e desenvolvimento durante a gravidez, infância e adolescência, sendo também um componente essencial para os órgãos dos sentidos (Guimarães et al., 2014; Lin et al., 2017). Para além de propriedades antioxidantes, está ainda envolvido nas funções cognitivas, fertilidade e reprodução, manutenção dos ossos, cabelos, unhas, pele e visão (Paschoal et al., 2008).

O ferro, elemento essencial para todas as células é fundamental para a hematopoiese e saúde humana (Young et al., 2018). É o constituinte principal das hemoproteínas, a maior parte encontra-se na hemoglobina e na mioglobina, sendo que a deficiência deste afetará a função destas proteínas

(Paschoal et al., 2008). A ingestão de ferro heme e não-heme, bem como uma dieta equilibrada, está associada a níveis normais do nível de ferro (Young et al., 2018). É igualmente fundamental para o crescimento, desenvolvimento, funcionamento celular normal, produção de ATP, metabolismo dos ácidos gordos, detoxificação hepática (através do CYP450), síntese de algumas hormonas, de neurotransmissores e de tecido conjuntivo. Contribui também para a transmissão de impulsos nervosos, síntese de ADN e ARN, metabolismo energético, bom funcionamento do sistema imunológico, produtividade e desempenho mental (Paschoal et al., 2008; Devlin, 2011; Young et al., 2018).

O manganês é um micronutriente fundamental na formação e funcionamento da enzima SOD (superóxido dismutase) presente nas mitocôndrias, desempenha um papel importante na redução dos danos celulares, provocados pelas espécies reativas de oxigénio (ROS) (Paschoal et al., 2008; Guimarães et al., 2014; Horning et al., 2015). Contribui para a diminuição da inflamação e dor associada a doenças inflamatórias, sendo também necessário para o funcionamento normal do cérebro, sistema nervoso e sistema enzimático em geral (Horning et al., 2015). Para além de outras funções que lhe são associadas, como por exemplo, regulação dos níveis de açúcar no sangue e como cofator de vários processos bioquímicos, nomeadamente na produção de dopamina, melanina e na síntese de ácidos gordos. É fundamental para a produção de tiroxina (T₄) e para a saúde da tireoide para além da sua ação na cicatrização de feridas. Combinado com o cálcio pode atuar para atenuar a sintomatologia da TPM (Paschoal et al., 2008).

Apesar do Mn ser um micronutriente necessário para a vida, é no entanto tóxico, sendo o sistema nervoso o principal alvo (Horning et al., 2015; Lucchini et al., 2018). Por isso é imprescindível que os níveis no corpo sejam mantidos adequadamente. A deficiência de ferro, uma das deficiências nutricionais mais comuns do mundo, pode resultar em toxicidade do Mn. Como o Fe e o Mn competem por proteínas de transporte semelhantes, níveis mais baixos de Fe levam à acumulação de Mn a níveis tóxicos ao longo do tempo (Horning et al., 2015). A superexposição ao Mn pode induzir neurotoxicidade e contribuir para o desenvolvimento da doença de Alzheimer e da doença de Parkinson, para além de outros distúrbios neurodegenerativos, como esclerose lateral amiotrófica (ELA) e doença de Huntington (HD), que são caracterizados por alterações da homeostasia do Mn e que também pode contribuir para a agregação de proteínas específicas da doença (Martins Jr et al., 2019).

1.3. A importância do perfil nutricional

O cultivo da *M. oleifera* Lam. em Sousel surgiu pela intenção de a introduzir na alimentação da população portuguesa e contribuir para melhorar a saúde em geral. As inúmeras propriedades que lhe são atribuídas nas mais diversas patologias, nomeadamente a ação anti-inflamatória, antioxidante e reguladora da imunidade, para além da sua importante utilização nas doenças com maior relevância da nossa sociedade, como por exemplo as doenças do metabolismo, a diabetes, a hipertensão arterial e a hipercolesterolemia.

Os objetivos do presente trabalho foram fazer a caracterização dos componentes voláteis das folhas e flores da *Moringa oleifera* cultivada em Portugal e a avaliação do perfil nutricional. Relacionar os dados encontrados com os cultivos de *M. oleifera* noutras localizações, para além de permitir perceber o seu valor nutricional e a sua possível contribuição para uma alimentação mais equilibrada visando a diminuição de algumas carências nutricionais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Localização da estufa

A plantação em estufa da *M. oleifera* encontra-se localizada em Sousel, no concelho e distrito de Portalegre (Fig. 2.1) sendo que é a primeira desta espécie em Portugal. A estufa foi construída em 2018, pois as condições climáticas não são adequadas para o seu desenvolvimento principalmente no Inverno.

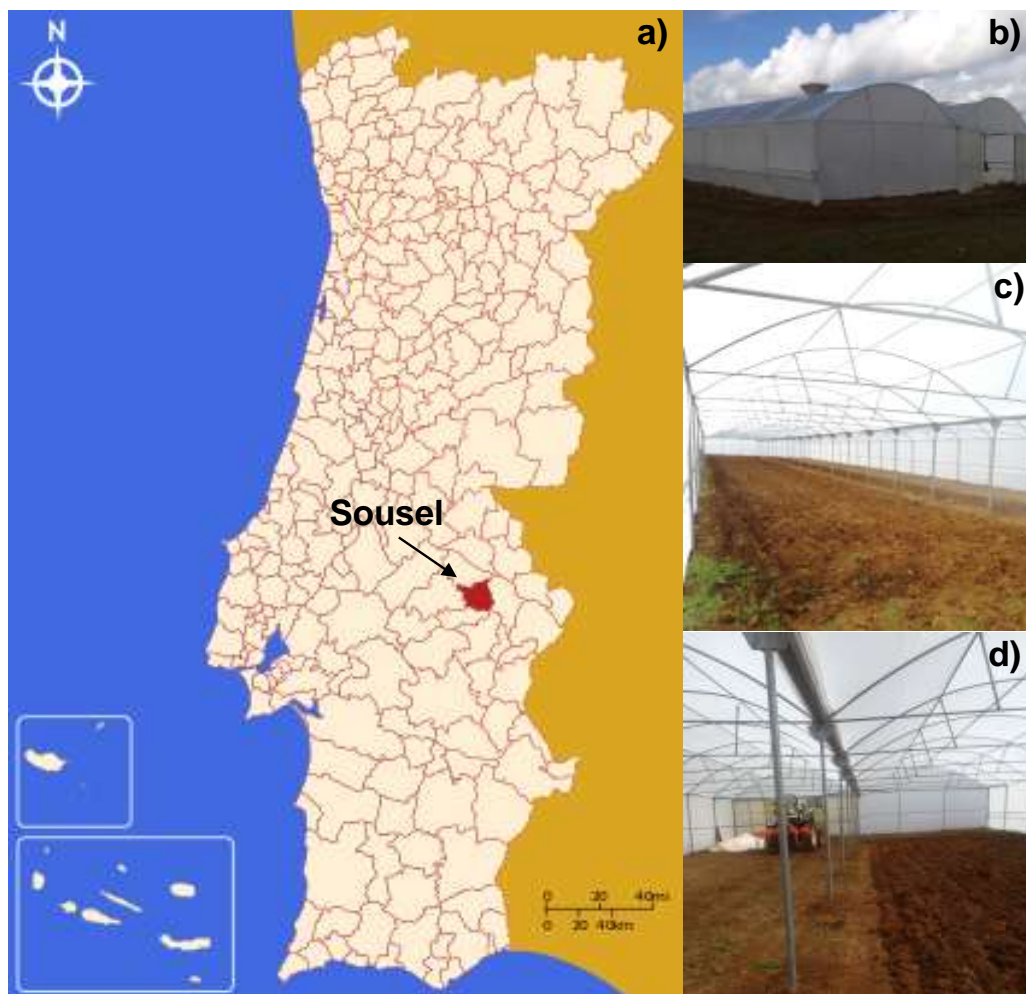
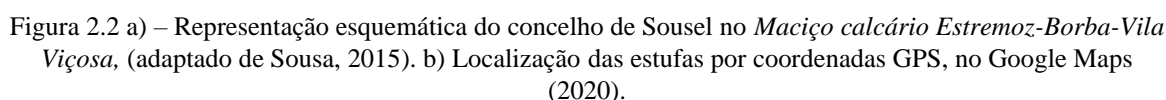


Fig. 2.1 a) Mapa de localização da estufa; b) Fotografia do exterior da estufa; c) e d) Fotografia do interior da estufa.

Nesta região do Alto Alentejo existe uma amplitude térmica bastante acentuada, nos meses mais frios registaram-se temperaturas mínimas entre 3 °C e os 7 °C e uma máxima entre os 10 °C e 18 °C, nos meses mais quentes a mínima situou-se entre os 12 °C e os 30 °C, enquanto a temperatura máxima atingiu facilmente 30 °C e 42 °C (Fig. a 2.1). No que diz respeito à humidade relativa, nos meses mais quentes esteve entre 20 % e 80 % e nos meses mais frios entre 30 % e 100 % (Fig. a 2.2).



O concelho de Sousel integra a unidade do *Maciço calcário Estremoz-Borba-Vila Viçosa*. Esta unidade tem uma importante natureza calcária, relacionada direta ou indiretamente com a natureza calcária do subsolo. Possui excepcionais recursos em águas subterrâneas (sistema aquífero de Estremoz-Cano) que proporciona solos de elevada fertilidade. Junto a esta unidade existem igualmente solos mais pobres e pedregosos (Fig. 2.2 a), (Sousa, 2015).

A sementeira da *M. oleifera* ocorreu em meados do mês de abril de 2018. Após a demolha de 24 h em água de rega as sementes da MO foram introduzidas no solo numa cavidade com 6 cm de diâmetro e 8 cm de profundidade. A semente é colocada sobre uma cama de 2 cm de solo arenoso e estrume de cavalo da Coudelaria de Alter do Chão. Colocaram-se 1000 sementes em fileiras que distam 1 m entre si e 40 cm entre pés (Fig. 2.3).

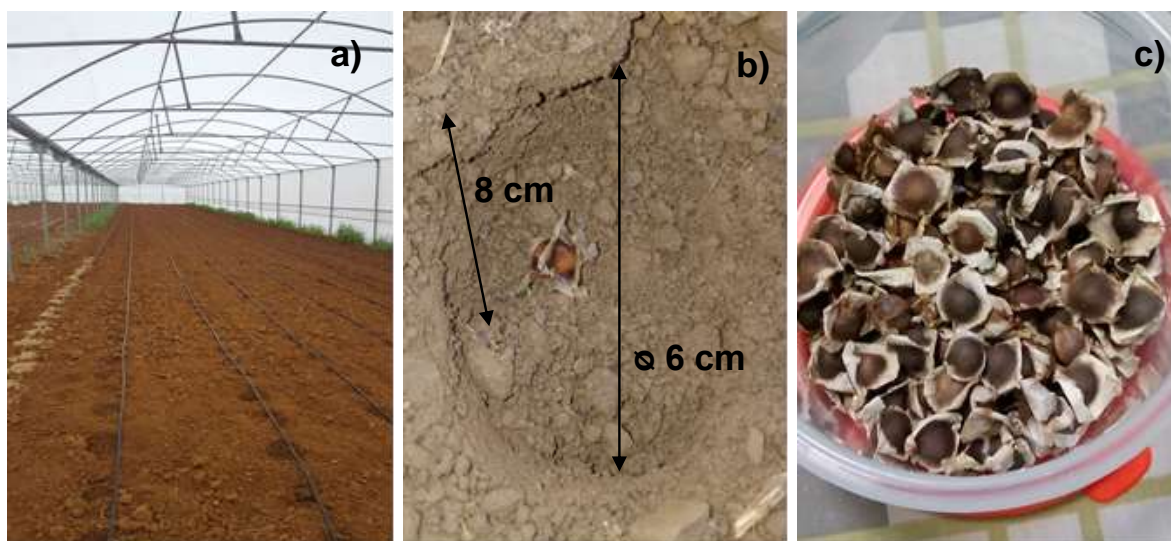


Fig. 2.3 a) Sistema de rega gota-a-gota; b) Dimensões da cavidade da sementeira; c) Sementes de MO (\approx 4-8 mm)

Foram efetuadas colheitas de amostras de solo em quatro pontos no interior da estufa e um no exterior para análise da composição mineral. A sua localização está identificada por coordenadas GPS, do inglês *Global Positioning System* (ver anexo 2, Fig. a 2.2).

Os solos foram objeto de uma análise prévia e a sua leitura pormenorizada pode ser consultada em anexo (Tabela a 2.2 e Tabela a 2.3). Verificaram-se as seguintes características: pH entre 6,47 e 6,91, condutividade elétrica 243 μ S/cm, matéria orgânica 3,17 %, carbono orgânico 1,84 %, azoto

total 0,15 %. Os elementos minerais: B – 1,15 mg/Kg; C - 0,4 %; Cu – 2,1 mg/Kg; Fe – 95,5 mg/Kg; Mb - <0,03 mg/Kg; Mg - 718 mg/Kg; Mn – 565,2 MnAI (índice de disponibilidade); P - 44 mg/Kg; S – 4,5 mg/Kg; Zn – 1,5 mg/Kg (Tabela a 2.2).

2.2. Material vegetal

As sementes utilizadas para preparar o extrato são do lote que deram origem à plantação, foram adquiridas em 2017 a uma empresa de produção e comercialização de sementes certificadas da região de Matões (Brasil) (ver anexo 2, Fig. a 2.4).

Utilizou-se uma fita métrica para realizar as medições periódicas mensais relativamente ao crescimento dos pés de *Moringa oleifera* na estufa.

Em agosto de 2018 colheram-se folhas e caules para análise elementar efetuada no departamento de Ciências da Terra da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa. Em setembro de 2019 colheu-se material vegetal, nomeadamente folhas, caules e flores, para a análise dos voláteis e em novembro de 2019 para análise elementar e perfil nutricional.

2.3. Extração e análise de voláteis

Todo o material foi devidamente separado, pesado, guardado em envelope de papel e mantido à temperatura ambiente até ao isolamento dos voláteis. As sementes (≈ 8 g p.s.), folhas e caules (≈ 21 g p.s.) e flores ($\approx 0,3$ g p.s.) foram guardados no Centro de Biotecnologia Vegetal (CBV) da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, para extração de voláteis.

2.3.1. Extração de voláteis

A extração de voláteis foi realizada por hidrodestilação, durante 3 h, num aparelho de *Clevenger*, de acordo com as recomendações da Farmacopeia Europeia (Council of Europe, 2010) (Fig. 2.4), com uma velocidade de destilação de 3 mL/min.

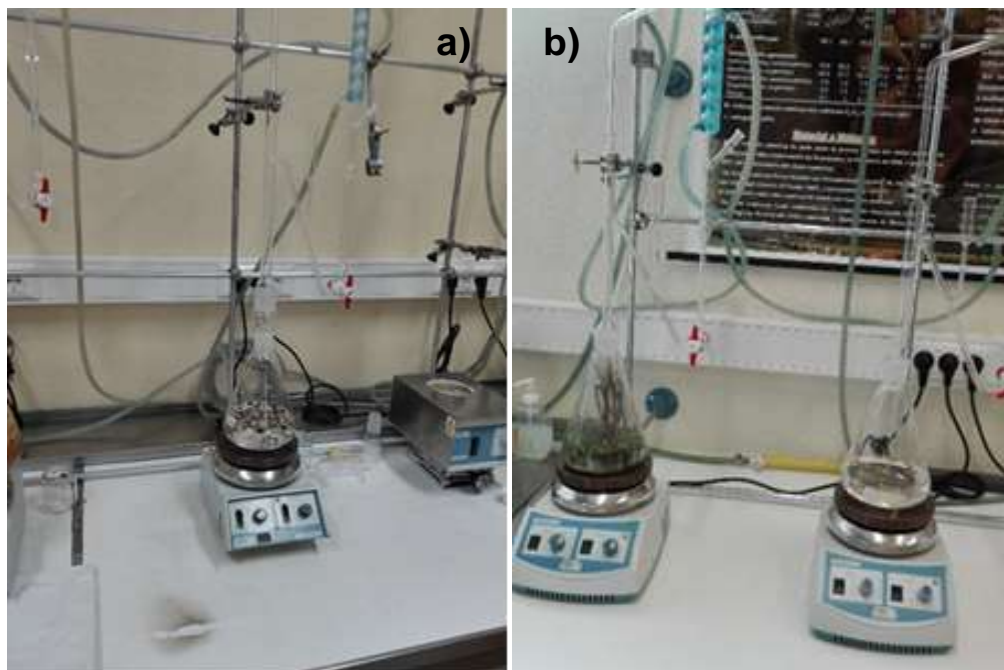


Fig. 2.4 - Aparelho de *Clevenger*, processo de hidrodestilação de *M. oleifera*, a) sementes, b) Folhas e pequenos caules (à esquerda) e flores (à direita).

Os voláteis, com rendimento $< 0,05\%$, foram recuperados com o *n*-pentano destilado para um *vial*. Posteriormente os voláteis foram concentrados a um volume mínimo num concentrador de bancada, sob fluxo de azoto (Fig. 2.5 a). Os voláteis foram guardados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até à sua análise (Fig. 2.5 b, c, d).

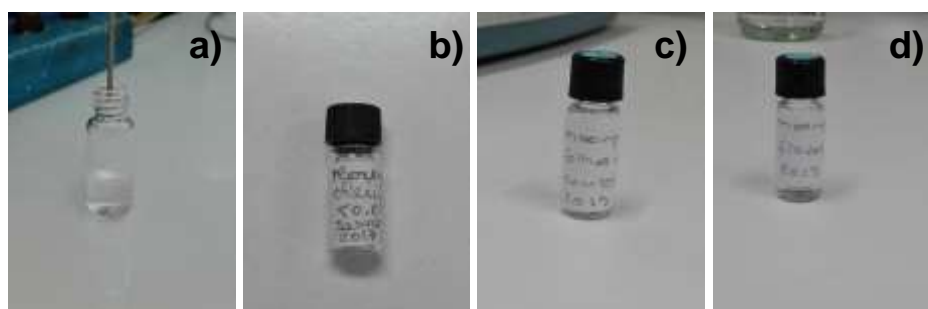


Fig. 2.5 a) Processo de concentração da amostra. Voláteis de b) sementes, c) folhas e pequenos caules, e d) flores.

2.3.2. Cromatografia Gasosa e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa

A caracterização química dos voláteis em análise foi efetuada por Cromatografia Gasosa com detetor de Ionização de Chama (GC-FID do inglês *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector*) para quantificação dos componentes, e por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS do inglês *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) para sua identificação (Fig. 2.6).

As análises de GC-FID foram efetuadas num cromatógrafo Clarus 400 equipado com dois detetores de Ionização de Chama (DIC), um sistema de tratamento de dados e um injetor, no qual foram instaladas duas colunas de polaridade diferente: DB-1 de sílica fundida, de fase imobilizada de 100 % de metilsilicone (30 m x 0,25 mm d.i., espessura de filme 0,25 μ m; J & W Scientific Inc.) e DB-17HT de fase imobilizada de (50 %-fenil)-metilsilicone (30 m x 0,25 mm d.i., espessura de filme 0,25 μ m; J & W Scientific Inc.). A temperatura do forno foi programada de 45 °C a 175 °C, com incrementos de 3 °C/min, e subsequentemente a 15 °C/min até 300 °C. Atingidos os 300 °C a temperatura foi mantida isotérmica durante 10 min, num total de 61,67 min de corrida. As definições do cromatógrafo foram ajustadas para: temperatura do injetor e dos detetores, 280 °C e 300 °C, respetivamente; gás de arrastamento, hidrogénio, ajustado para uma velocidade linear de 30 cm/s (Fig. 2.6 a). A composição percentual dos óleos essenciais foi determinada, usando o método da normalização pela integração das áreas dos picos sem utilização de fatores de correção. Os valores apresentados da componente volátil extraída correspondem ao valor médio de duas injeções por amostra.

A unidade de GC-MS consistiu num cromatógrafo Perkin Elmer Clarus 600 equipado com uma coluna de sílica fundida DB-1 (30 m x 0,25 mm d.i., espessura de filme 0,25 μ m; J & W Scientific Inc.) ligado a um espectrómetro de massa Perkin-Elmer Clarus 600T (versão de software 5.4.2.1617, Perkin Elmer, Shelton, CT, USA). A temperatura do forno foi programada de 45 a 175 °C, com incrementos de 3° C/min, e subsequentemente a 15 °C/min até 300 °C. Atingidos os 300° C a temperatura foi mantida isotérmica durante 10 min; temperatura da linha de transferência, 280 °C; temperatura da câmara de ionização, 220 °C; gás de arrastamento, hélio, ajustado para uma velocidade linear de 30 cm/s; relação de repartição de fluxo, 1:40; energia de ionização, 70 eV; corrente de ionização, 60 μ A; gama de massas, 40-300 u; tempo de varrimento, 1 s (Fig. 2.6 b).



Fig. 2.6 a) Cromatógrafo Clarus 400 GC-FID; b) Cromatógrafo Clarus 600 acoplado à Espectrometria de Massa Clarus 600T GC-MS

A identidade dos compostos foi determinada por comparação dos seus índices de retenção (IR), em relação aos dos *n*-alcanos C₈-C₂₉, e por comparação dos seus espectros de massa, com os de padrões sintetizados no laboratório, padrões comerciais e compostos de referência presentes em óleos essenciais existentes no laboratório, incluídos numa biblioteca de espectros de massa também desenvolvida no CBV da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa e que se encontra incorporada no respetivo *software*.

2.4. Análise elementar

As amostras vegetais (folhas e flores) de *Moringa oleifera*, colhidas em novembro de 2019, foram previamente desidratadas e maceradas com recurso a um almofariz de porcelana (Fig. 2.7 a, c) no departamento de Ciências da Terra da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa. Após se obter a consistência adequada foram colocadas em bolsas de plástico devidamente identificadas (Fig. 2.7 b, d) e mantidas à temperatura ambiente até à preparação das amostras.

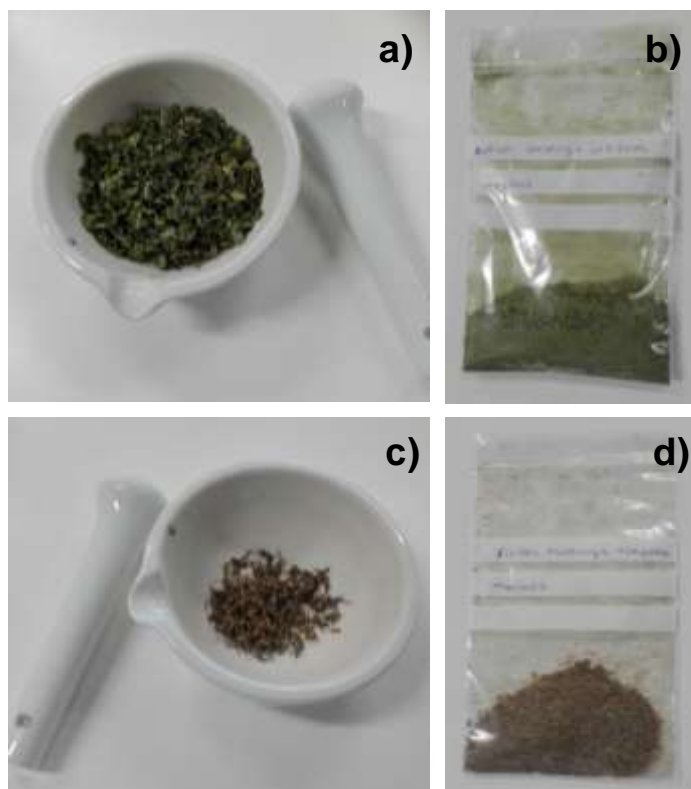


Fig. 2.7 – *M. oleifera*, a) Folhas secas; b) Folhas trituradas; c) Flores secas; d) Flores trituradas.

2.4.1- Fluorescência de raios-X por dispersão de energia (EDXRF)

A espectroscopia de fluorescência de Raios-X, hoje bastante utilizada, é uma técnica atômica que consiste na análise da composição de materiais, após irradiação de um feixe de Raios-X (feixe primário) proveniente de uma ampola ou de outro tipo de fonte que origina a ionização dos átomos do material em análise, sendo que os eletrões das camadas mais externas acabam por preencher a lacuna deixada pelo eletrão ejetado. Este fenómeno origina a emissão de um fóton com energia igual à diferença de energias entre as camadas envolvidas na transição. Os elementos da amostra, por absorção dos fótons originados pelo feixe primário, são ionizados e ao retornar ao seu estado fundamental, emitem riscas de fluorescência de Raios-X (feixe secundário) que são características de cada elemento individual. O feixe secundário é coletado pelo detetor onde as riscas características podem ser classificadas de acordo com a sua energia. Uma vez que as transições de eletrões entre os níveis de energia são características intrínsecas de cada elemento, assim como a radiação emitida,

isto permite identificar o elemento em questão e a intensidade dessa radiação está diretamente relacionada com a concentração desse elemento. Os pulsos recebidos são transformados pelo sistema de aquisição num espectro de fluorescência e a partir do estudo do espectro obtido, é possível analisar diversos fatores como a presença, ou não, de certos elementos e as respetivas concentrações, para além de realizar mapeamentos elementares (Fig. 2.8).

Através deste método é possível detetar todos os elementos presentes em amostras que possuam número atómico superior a 11 (Na), embora elementos como o magnésio (Mg) e o fósforo (P), com números atómicos ligeiramente superiores, se estiverem em baixas concentrações nas amostras, ficarão abaixo dos limites de deteção do aparelho.

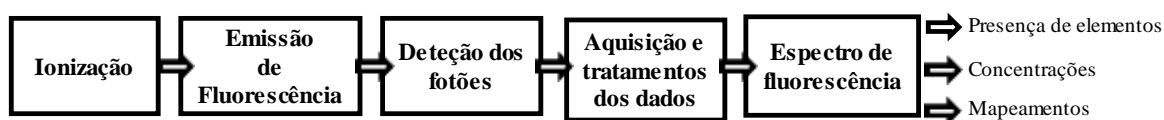


Figura 2.8 – Esquema genérico de XRF.

A energia dos picos de fluorescência de raios X pode ser associada a um elemento específico pela comparação das linhas espectrais produzidas com as linhas de energias tabeladas para a determinação do elemento. Ao considerar espectros de EDXRF é comum classificar as linhas espectrais de acordo com a série K, L, M, que corresponde às transições dos fótons emitidos para os níveis atómicos K, L, M respetivamente. A análise de EDXRF baseia-se principalmente no estudo das séries K e L, uma vez que essas transições de alta intensidade permitem a identificação e caracterização dos elementos numa amostra. Ao considerar elementos pesados, a série L é usada, pois o espectrómetro usado neste caso consiste de um tubo e um detetor que não podem atingir as energias da linha K para elementos mais pesados (Vitha, 2015).

A quantificação absoluta dos vários elementos foi realizada com o método dos parâmetros fundamentais, ou seja, validou-se o presente método através de dois procedimentos: no primeiro, comparou-se as concentrações obtidas com concentrações conhecidas presentes em materiais de referência padrão de matrizes de tipo orgânico: folhas de pomar (NBS 1571), ramos de arbustos (GBW 07603) e folhas de choupo (GBW 07604). As concentrações dos elementos K, Ni, S, P, Cr, Cl, Ti, Ca, Mn, Fe, Se, Cu, Zn, I, As, Br, Rb, Sr e Pb foram obtidas para as amostras. As energias das principais linhas de emissão $K\alpha$ foram usadas para a quantificação de todos os elementos

medidos, exceto Pb, para o qual as linhas de emissão $L\alpha$ e $L\beta$ foram utilizadas. A preparação de pastilhas dos materiais de referência padrão seguiu o mesmo procedimento que as amostras testadas. No geral, o método de parâmetros fundamentais é capaz de obter as mesmas concentrações de elementos que os valores certificados, dentro do nível de incerteza. Em ambos os casos, a incerteza apresentada corresponde a limites de confiança de 95 % (isto é, a dois desvios padrão) do procedimento de adaptação. O equipamento utilizado neste trabalho foi o espectrómetro Tornado M4 da Bruker (Berlín) que é composto por um tubo de raios-X com ânodo de ródio, um policapilar que permite um feixe de alta intensidade numa área de apenas 25 μm . O sistema de deteção é um Silicon Drift Detector (SDD) com uma resolução de 130 eV a uma energia de 5.9 KeV (Cardoso et al., 2018).

Em EDXRF o limite de deteção, que corresponde à quantidade de massa ou concentração mínima que é possível detetar/quantificar numa amostra, é calculado a partir do número de contagens registadas no detetor numa dada região, tendo em consideração o número de contagens correspondentes ao ruído de fundo. No sistema de EDXRF, a deteção de elementos mais leves é muito difícil, apresentando baixos rendimentos para esses níveis de energia devido à absorção dos Raios-X de baixa energia no meio ótico e na janela do detetor. O limite mínimo de deteção DL (*detetion limit*) para a maioria dos elementos analisados, foi de 3 $\mu\text{g/g}$, pelo que valores muito próximos deste limite devem ser reconsiderados. Todos os valores apresentados com BDL (*below detetion limit*) encontram-se abaixo do limite de deteção da técnica o que não significa que não estão presentes na amostra mas que se estiverem a sua concentração não é possível de quantificar através desta técnica.

2.4.2 Preparação das amostras

De cada amostra realizou-se um triplicado que consistiu na obtenção de 3 pastilhas de 2,0 cm de diâmetro após prensagem do pó por uma força equivalente a 10 toneladas. Cada pastilha ($\approx 0.3 \text{ mg}$), foi colada num filme de “Mylar”, com cola inerte para as análises, e posteriormente acondicionada numa armação de “slide”. O slide referente a cada amostra foi então colocado diretamente em posição do feixe de raios-X para determinação elementar. Para cada espectro o tempo de aquisição foi de aproximadamente 240 s. Após a obtenção dos espectros para os três pastilhas de cada amostra analisada no EDXRF, os mesmos foram avaliados qualitativa e quantitativamente tendo-se obtido o valor médio e o respetivo desvio padrão.

2.5. Perfil nutricional

As folhas e flores colhidas em novembro de 2019 foram enviadas para o laboratório de fisiologia vegetal do INIAV (Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária) a fim de se proceder à avaliação do perfil nutricional.

2.5.1 Extração dos lípidos totais

A extração dos lípidos totais (LT) das membranas celulares foi realizada como descrito em Scotti-Campos et al. (2014). Amostras de folhas e de flores de *Moringa oleifera* 1 g p.f., previamente congeladas em azoto líquido e mantidas a -80 °C, foram fervidas em 10 mL de água ultrapura (*Milli-Q*, Tipo I) durante 2 min para interromper a atividade lipolítica. A extração da fração lipídica foi realizada por maceração em almofariz com 30 mL de uma mistura de clorofórmio/metanol/água (1/1/1; v/v/v), seguida de centrifugação a 15000 g, 15 min, 4 °C e recolha com pipeta de *Pasteur* da fase inferior (contendo os lípidos) para frasco de vidro com tampa. Este extrato foi seco em banho termoestabilizado a 40 °C sob corrente de N₂, e o resíduo seco ressuscitado em 1 mL de etanol/tolueno (1/4, v/v) e guardado a -30 °C.

Para análise dos ácidos gordos totais (AGT), alíquotas de 100 µL dos LT foram pipetadas para tubos de vidro com tampa de rosca e septo de teflon, saponificadas com 4 mL de hidróxido de sódio 0,5 M em metanol (NaOH 0,5M-Metanol) a 65 °C durante 15 min e arrefecidas em água corrente para interromper a reação. Foram adicionados 100 µg de ácido heptadecanóico (C17:0) como padrão interno e as amostras metiladas com 2 mL de trifluoreto de boro (BF₃-Metanol) nas mesmas condições da saponificação. Após adição à mistura de 10 mL de pentano e 2 mL de água, agitação no vortex (30 s) e decantação (60 min), recolheu-se a fase superior (pentânica), contendo os ésteres metílicos de ácidos gordos (AG), com uma pipeta de *Pasteur* para tubo de vidro com tampa de rosca e septo de teflon. Após a evaporação do pentano através de banho termoestabilizado a 40 °C sob corrente de N₂, as amostras foram ressuscitadas em 50 µL de etanol:tolueno (1/4, v/v) e guardadas em frascos de vidro, em atmosfera de N₂ a -30 °C até injeção.

2.5.2 Cromatografia Gasosa com Detetor de Ionização de Chama (GC-FID)

As amostras dos ácidos gordos (AG) metilados foram injetadas (1 µL por cada amostra) num aparelho de Cromatografia Gasosa com detetor de Ionização de Chama (GC-FID do inglês *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector*, CP-3380, Varian, CA, EUA) e os AG separados numa

coluna capilar DB-Wax (J & W Scientific, EUA) com 0.25 mm de diâmetro interno, 30 m comprimento e 0.25 µm de espessura de filme, com subida programada da temperatura de 80 a 200 °C, a uma taxa de 12 °C/min, após 2 min à temperatura inicial. As temperaturas do injetor e do detetor foram 200 e 250 °C, respetivamente. O hidrogénio como gás de arraste com um fluxo de 1 mL/min numa razão de *split* de 1:100 da amostra. Os AG foram identificados por comparação com padrões conhecidos (Sigma, USA). Os valores de AGT correspondem à soma dos AG individuais: ácidos linolénico (C18:3), linoleico (C18:2), oleico (C18:1), esteárico (C18:0), palmitoleico (C16:1), palmítico (C16:0) e mirístico (C14:0).

O grau de insaturação dos AGT foi calculado pelo *Double Bond Index* (DBI), segundo a fórmula: $DBI = [(\% \text{ monoenes} + 2 \times \% \text{ dienes} + 3 \times \% \text{ trienes}) / \% \text{ AG saturados}]$ (Mazliak, 1983).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Crescimento da *Moringa oleifera*

3.1.1 Caracterização do solo

Análises prévias efetuadas ao solo (Tabela a 2.2, Tabela a 2.3) e à água de rega (Tabela a 2.1) podem ser consultadas em anexo, como já referido anteriormente neste trabalho. O solo apresenta características argilosas com valores de pH que variam entre 6,47 e 6,91, condutibilidade elétrica de 243 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Seguidamente apresenta-se a interpretação dos resultados reportados pelo laboratório. Os elementos: P e Mo encontravam-se com valores muito baixo e baixo, respetivamente; os elementos B, Cu, Fe, K, S e Zn apresentavam valores médio no caso do S e alto para todos os outros; o Ca, Mg e Mn encontravam-se em excesso.

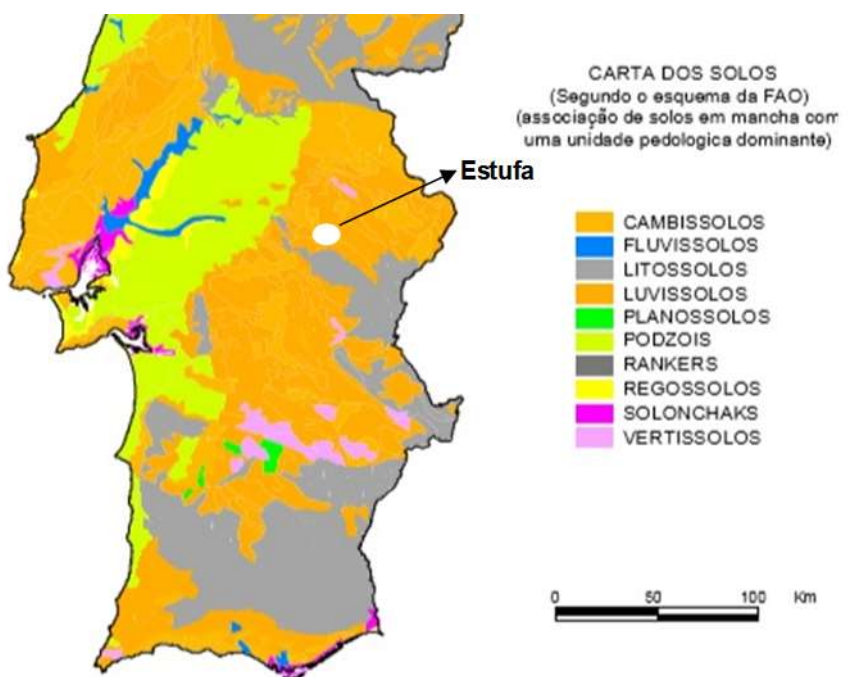


Figura 3.1 - Localização da estufa, adaptação de “Caracterização de Portugal Continental” (Ferreira, 2000).

De acordo com a “Caracterização dos solos de Portugal Continental” (Ferreira, 2000), as

estufas de Sousel estão implantadas em Luvissolos/Cambissolos, conforme se observa na Figura 3.1.

Os Luvissolos caracterizam-se pela presença de uma faixa de acumulação de argila a determinada profundidade como resultado de processos pedogenéticos (Bonito, 2016). São predominantes em terrenos planos e mediterrânicos do Alentejo, entre Beja e Portalegre, quase sempre sobre rochas graníticas (Ferreira, 2000; Bonito, 2016). De acordo com Suszek et al. (2019), os Luvissolos pelo facto de apresentarem maior quantidade de argila, oferecem maior resistência à passagem da água, sendo a porosidade inversamente proporcional à densidade, os solos argilosos apresentam menor condutividade do que os arenosos.

Os Cambissolos combinam solos com pelo menos uma formação de solo incipiente na superfície. A transformação de material de origem é evidente pela formação de estruturas e principalmente pela descoloração acastanhada, não apresentando quantidades apreciáveis de argila, matéria orgânica e compostos de alumínio ou ferro. Para além de que, a rocha mãe é quase sempre granítica (Bonito, 2016).

Na Tabela 3.1, encontram-se identificados 17 elementos, obtidos por análises de XRF, efetuadas aos diferentes locais de amostragem.

Tabela 3.1 – Composição elementar do solo nos diferentes locais de amostragem.

AMOSTRAS					
Elementos	1	2	3	4	5
Estrôncio	74,6 ± 2,9	67,2 ± 1,7	61,0 ± 1,9	67,0 ± 0,8	59,0 ± 1,6
Zinco	45,1 ± 2,3	46,5 ± 2,1	45,9 ± 3,8	50,2 ± 1,9	49,2 ± 1,9
Ferro	4,7 ± 0,2	5,4 ± 0,3	5,9 ± 0,3	6,5 ± 0,4	5,7 ± 0,2
Manganês	767 ± 53	1032 ± 281	973 ± 99	1087 ± 363	1056 ± 143
Cálcio	0,6 ± 0,02	0,7 ± 0,05	0,7 ± 0,03	0,8 ± 0,08	0,6 ± 0,02
Potássio	0,9 ± 0,04	0,8 ± 0,02	0,7 ± 0,04	0,7 ± 0,05	1,3 ± 0,03
Alumínio	1,9 ± 0,33	1,8 ± 0,12	2,1 ± 0,38	2,1 ± 0,09	2,3 ± 0,11
Fósforo	1078 ± 48	1882 ± 237	1542 ± 496	2072 ± 371	1621 ± 536
Cloro	760 ± 168	884 ± 45	797 ± 172	820 ± 25	614 ± 73
Enxofre	534 ± 96	624 ± 56	714 ± 78	983 ± 142	354 ± 35
Magnésio	1995 ± 576	2084 ± 448	1566 ± 528	1735 ± 144	1879 ± 198

Os valores médios são expressos em mg/kg ± desvio padrão ou em % (Fe, Ca, K, Al) ± desvio padrão. Os valores médios foram a partir de triplicados excepto os referentes à estação 3 em que n = 5.

Para melhor enquadrar o solo da amostragem, foi elaborada a Tabela 3.2, em que se comparam os resultados obtidos, com os dados relativamente a Cambissolos, Solos da Europa e Solos agrícolas.

Na generalidade, as concentrações dos elementos estão de acordo com os dados da literatura analisada, no entanto deve-se salientar que não se detetou Cobre (Cu) e o Molibdénio (Mo), o que está relacionado com os limites de deteção do aparelho de fluorescência de raio-X portátil.

Tabela 3.2 – Análise comparativa relativamente aos elementos-traço entre os valores da amostragem e os dados da literatura (de acordo com Kabata-Pendias, 2011).

Elementos	Amostragem		Cambissolos		Solos da Europa	Solos agrícolas
	Variação	Média	Variação	Média	Média	Variação
Estrôncio	59-75	65,8 ± 5,4	15-1000	210	130	
Zinco	45-50	47,4 ± 1,9	35-75	60	68,1	100-300
Cobre			4-100	23	17,3	60-150
Ferro	5-6	5,6 ± 0,6	1,5-3,0			0,5-5
Manganês	767-1087	983 ± 114,1	45-9200	525	524	

Os valores são expressos em mg/Kg e em percentagem (%) (Fe)

As fontes dos oligoelementos no solo e no ambiente são naturais e antropogénicas (Gupta et al., 2018). A absorção de macronutrientes e micronutrientes pelas plantas depende de vários fatores inerentes às características do substrato e das próprias plantas (Reboredo, 2012), para além do tipo particular de nutriente e da especiação química, sendo que os principais parâmetros a ter em conta, são, o pH, a capacidade de troca iónica, a matéria orgânica, os óxidos ou hidróxidos (principalmente Fe, Mn e Al) e os microrganismos (Kabata-Pendias, 2011). A disponibilidade dos elementos para absorção radicular é influenciada, como anteriormente referido, por propriedades e características químicas do solo, sendo o pH um dos fatores mais importantes. Valores de pH ácido favorecem a absorção de micronutrientes em detrimento de macronutrientes, enquanto valores de pH básico favorecem a absorção de macronutrientes, pelo que os valores de pH dos solos utilizados (entre 6.4 e 6.9) são bastante adequados para práticas agrícolas. Os solos com maior teor de argila e pH alcalino, fixam muito pouco potássio (K) (Portela e Abreu, 2018). No nosso caso, apesar dos elevados teores de argila, os solos não são alcalinos.

A fertilidade do solo depende do nutriente em questão, ou seja, um solo pode ser fértil em relação a um nutriente e não relativamente a outro. Ocorre a mesma relatividade em questão à espécie

cultivada, que tem a ver com as necessidades de cada espécie (Mendes, 2007).

3.1.2 Crescimento da *Moringa oleifera*

O crescimento da *M. oleifera* até julho de 2018 foi muito rápido (Fig. 3.2) (Tabela 3.3) o que obrigou a uma primeira poda no final do mês de julho de 2018 (Fig. 3.3 a) dado que os exemplares estavam a atingir o topo superior da estufa. Em agosto de 2018 foram colhidas folhas e pequenos caules para análise elementar. Entre agosto e setembro toda a plantação cresceu intensamente e no final de setembro quase que atingiu a dimensão anterior (Fig. 3.3 c), nesta data procedeu-se a nova poda que teve características diferentes da anterior. Esta ocorreu de forma faseada e prolongou-se por 6 semanas. A partir de outubro de 2018 as plantas cresceram mais lentamente, as folhas começaram a ficar amarelas, sintoma evidente de senescência (Fig. 3.4) só voltando a ter novos rebentos em março de 2019. A partir desta data o crescimento continuou e no final de abril iniciou-se a floração (Fig. 3.5) que se manteve até final de novembro. Em maio de 2019, foi colocada uma rede para impedir o crescimento de outras espécies (Fig. 3.6) e foi realizada uma colheita de folhas, pequenos ramos e flores, de forma manual, ramo a ramo, abandonando por completo o corte global do primeiro ano (Fig. 3.7). Em outubro de 2019 colheram-se folhas, pequenos caules e flores, para a análise dos voláteis e em novembro de 2019 para análise elementar e perfil nutricional.

Durante o tempo em que foi monitorizado o desenvolvimento dos exemplares da estufa em Sousel não ocorreu a formação de vagens, podendo dever-se ao facto da polinização da *M. oleifera* se efetuar através de agentes externos.

Tabela 3.3 – Registo do crescimento mensal da *M. oleifera* em 2018

Ano	Abril	Maio	Junho	Julho
2018	5 - 6	35 - 45	140 - 170	> 200

Os intervalos de valores são expressos em centímetro (cm).



Figura 3.2 - Crescimento da *M. oleifera* em 2018; a) abril; b) maio; c) maio, vista geral; d) junho; e) julho

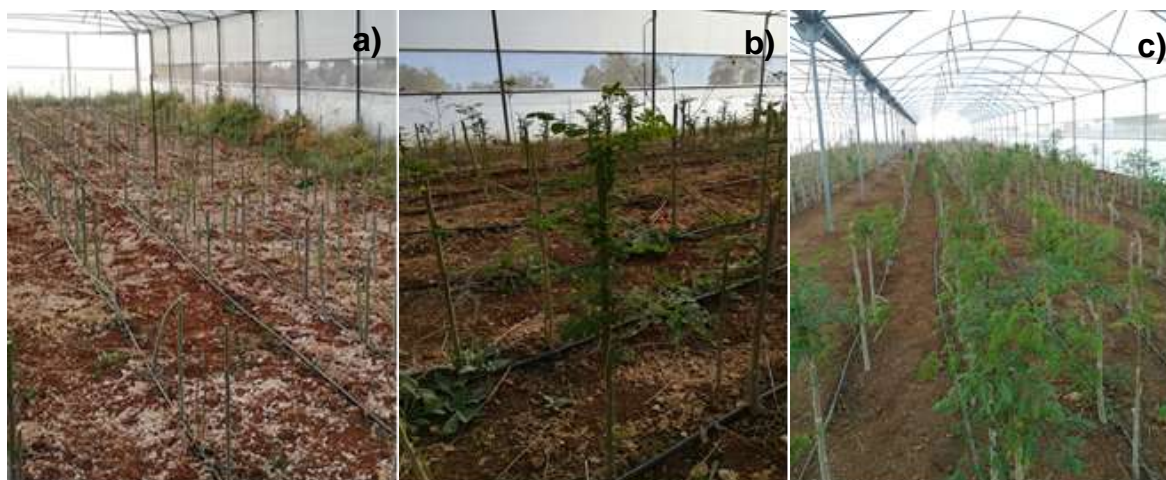


Figura 3.3 a) Corte da plantação de *M. oleifera* no final de julho 2018; b) 1 mês após o corte; c) 2 meses após corte.



Fig. 3.4 – Aparência da *M. oleifera* em outubro e novembro 2018.



Fig. 3.5 a) Aspeto da plantação de *M. oleifera* em abril/maio de 2019; b) o início da floração.



Fig. 3.6 - Após a colocação da rede de proteção no solo da estufa.



Fig. 3.7 – Desenvolvimento e floração da *M. oleifera* de maio até novembro de 2019.

3.2 Voláteis

Os óleos essenciais (OE) isolados das diferentes partes de *M. oleifera* foram obtidos com um rendimento $< 0,05$ % (v/p). A composição percentual destes OEs, encontra-se detalhada na Tabela 3.5, por ordem de eluição numa coluna DB-1, e os respetivos perfis cromatográficos na Figura 3.8. Na Tabela 3.5, os compostos encontram-se ainda agrupados, de acordo com a sua via biossintética, em sesquiterpenos, ácidos gordos, alcanos e o grupo de “outros” que inclui os compostos que não pertencem a nenhum dos grupos anteriores.

No conjunto dos OEs dos três tipos de amostras analisadas, foram identificados 20 componentes (Tabela 3.5), ainda que apenas 7 nos OEs das flores, 16 nos das folhas e 11 nos das sementes. O grupo dos alcanos, com o pentacosano, o heptacosano e o nonacosano, como constituintes dominantes, e o grupo dos ácidos gordos, dominado pelo ácido hexadecanóico, foram os grupos mais representativos destes OEs.

Os componentes voláteis identificados no OE das flores corresponderam a 99 % do total, sendo dominado pelos alcanos (84 %) e pelos ácidos gordos (15 %). O heptacosano (36 %) e o nonacosano (29 %) foram os componentes dominantes destes voláteis (Fig. 3.8 a, Tabela 3.5).

Os componentes voláteis identificados no OE das folhas corresponderam a 98 % do total, sendo que 41 % corresponderam aos alcanos, 38 % aos ácidos gordos e 20 % agrupados como

“outros”. Os componentes dominantes destes voláteis foram o ácido hexadecanóico (38 %) e o nonacosano (18 %) (Fig. 3.8 b, Tabela 3.4).

No caso do OE isolado das sementes, que deram origem à plantação, foram identificados 93 % dos constituintes, sendo que 67 % corresponderam a ácidos gordos, 14 % a alcanos e agrupados como “outros” 13 %. O ácido hexadecanóico (38 %) e o ácido oleico (29 %) foram os componentes dominantes destes voláteis (Fig. 3.8 c, Tabela 3.4).

Tabela 3.4 – Composição percentual dos óleos essenciais isolados de diferentes partes de *Moringa oleifera*

Componentes	IR	OEs de <i>Moringa oleifera</i>		
		Flores	Folhas	Sementes**
Octano (C8)	800			5,9
2-trans-Hexenal	866		11,8	
Benzaldeído	927			v
Acetaldeído benzénico	1002		1,6	
Cianeto de benzilo* (= fenilacetoneitrilo)	1077			12,8
Geranil acetona	1434		1,5	
Dodecanol	1468		v	
2,4-di-tert-Butilfenol (antioxidante)	1500			v
trans-Nerolidol	1549		v	
Hexadecano (C16)	1600		v	v
Ácido hexadecanóico (= ácido palmítico)	1908	15,0	37,5	37,9
Heneicosano (C21)	2100		v	
Acetato de fitol	2101		5,1	
Ácido oleico	2250		v	28,6
Tricosano (C23)	2300	0,6	v	
Pentacosano (C25)	2500	16,0	9,2	v
Hexacosano (C26)	2600	0,9	v	
Heptacosano (C27)	2700	36,4	13,8	1,4
Octacosano (C28)	2800	1,2	v	v
Nonacosano (C29)	2900	29,2	17,6	6,5
% Identificação		99,3	98,1	93,1
Componentes agrupados				
Sesquiterpenos oxigenados			v	
Ácidos gordos		15,0	37,5	66,5
Alcanos		84,3	40,6	13,8
Outros			20,0	12,8

IR: Índice de retenção relativo a uma série de *n*-alcanos C₈-C₂₉. * Composto identificado apenas com base no espectro de massa. v: vestigial (< 0,05 %) ** Sementes que deram origem à plantação.

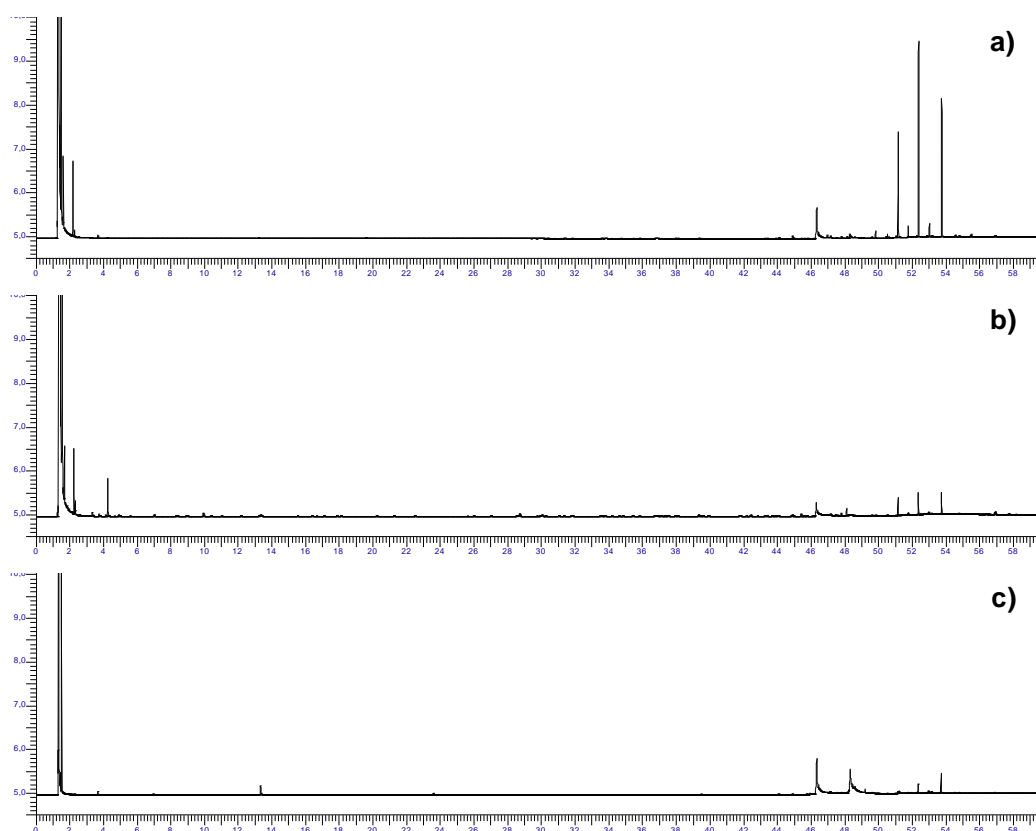


Fig. 3.8 – Perfis cromatográficos em GC-FID, dos OEs isolados das a) flores; b) folhas; e c) sementes de *M. oleifera*.

Relativamente à extração de voláteis das diferentes partes de *M. oleifera* a literatura é escassa. Apesar da existência de alguns trabalhos que caracterizam extratos de solvente orgânico, de diferentes partes de *M. oleifera*, apenas em cinco trabalhos se realizou a extração e análise de OEs (Chuang et al., 2007; Barreto et al., 2009; Marrufo et al., 2013; Kayode e Afolayan, 2015; Otham e El-Mongy, 2016), (Tabela 3.5).

Tal como no presente trabalho, Marrufo et al. (2013) encontraram um rendimento de 0,05 % para OE das folhas, enquanto que Chuang et al. (2007), para o mesmo tipo de material, obtiveram um rendimento de 0,24 %. Ao invés do presente trabalho, em que se obteve para as sementes um rendimento < 0,05 %, Kayode e Afolayan (2015) reportaram, também para as sementes, um rendimento de 6,98 %.

Tabela 3.5 – Dados da literatura referente à composição de diferentes tipos de extratos de *Moringa oleifera*.

Parte da planta	País de origem	Técnica de extração	Método de análise	Componentes dominantes $\geq 10\%$	Referência
Flores	Brasil	Hidrodestilação <i>Clevenger</i>	GC-MS	Tetracosano 27, acetato de hexadecilo 21, ácido hexadecanóico 18, ácido 9,12-octadienóico 12, nonacosano 10	Barreto et al., 2009
	Índia	Hidroetanólico	GC-MS	Etil oleato 15, acetofenona 14	Vats e Gupta, 2017
Folhas	Austrália	Soxhlet	GC-MS	Nonacosano 19, benzeno 17	Zhao e Zhang, 2013
	Austrália	SFE	GC-MS	Nonacosano 13-60, heptacosano 5-23	Zhao e Zhang, 2013
	Brasil	Hidrodestilação <i>Clevenger</i>	GC-MS	Fitol 22, ácido hexadecanóico 14, timol 10	Barreto et al., 2009
	China	HS-SPME	GC-MS	Ácido acético 12, 3,3-dimetil-ciclohexanol 10	Mukunzi et al., 2011
	Índia	Hidroetanólico	GC-MS	Fitol 23, vitamina E 21	Vats e Gupta, 2017
	Madagáscar	SFE	GC-MS	Triacotano 34, nonacosano 19	Rodríguez-Pérez et al., 2016
	Moçambique	Hidrodestilação <i>Clevenger</i>	GC-FID, GC-MS	Hexacosano 14, pentacosano 13, heptacosano 11, tetracosano 10, octacosano 10, nonacosano 10	Marrufio et al., 2013
	Ruanda	HS-SPME	GC-MS	Ácido hexanóico 20	Mukunzi et al., 2011
	Taiwan	Destilação por arrastamento de vapor	GC-MS	Pentacosano 17, hexacosano 11	Chuang et al., 2007
Sementes	Índia	Hidrodestilação <i>Clevenger</i>	GC-MS	Dimetil sulfóxido 72, ácido oleico 11	Otham e El-Mongy, 2016
	Malásia	Aquoso	GC-MS	4-hidroxibenzaldeído 42	Adebayo et al., 2018
	Malásia	Etanólico 80 %	GS-MS	4- hidroxibenzeno acetonitrilo 30	Adebayo et al., 2018
	Nigéria	SME	GC-MS	Ciclopentano 51, ácido hexadecanóico 11	Kayode e Afolayan, 2015
	Nigéria	Hidrodestilação <i>Clevenger</i>	GC-MS	Tetracosano 34, heptadecano 22, eicosano 20	Kayode e Afolayan, 2015

SFE: do inglês *Supercritical fluid extratction*. HS-SPME: do inglês *Headspace-Solid Phase Microextraction*. GC-MS do inglês *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*. GC-FID do inglês *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector*. SME do inglês *Solvent-free microwave extraction*.

O único trabalho prévio sobre o isolamento de OE das flores de *M. oleifera*, foi o de Barreto et al. (2009) que reportaram a identificação de 6 componentes sendo o tetracosano (27 %) e o acetato

de hexadecilo (21 %) os componentes dominantes (Tabela 3.5). Ao contrário, neste trabalho, e apesar de ser igualmente um alcano, o componente dominante foi o heptacosano (36 %), enquanto que o acetato de hexadecilo não foi encontrado nesta amostra (Tabela 3.4).

Dos três trabalhos já existentes de OEs das folhas de *M. oleifera*, Chuang et al. (2007) e Marrufo et al. (2013) identificaram 44 e 21 compostos, respetivamente, e reportaram componentes dominantes iguais (Tabela 3.5), nomeadamente o hexacosano (11 % e 14 %, respetivamente) e o pentacosano (17 %) e (13 %), respetivamente. O trabalho de Barreto et al. (2009) refere 16 compostos, sendo o fitol (22 %) e o ácido hexadecanóico (14 %) os componentes dominantes (Tabela 3.5). No presente trabalho os quatro compostos também foram identificados embora com percentagens distintas, pentacosano (9 %), fitol (5 %) e o hexacosano vestigial, enquanto que o ácido hexadecanóico (38 %) foi o componente dominante (Tabela 3.4).

Os trabalhos de Kayode e Afolayan (2015) e Otham e El-Mongy (2016) sobre os OEs das sementes de *M. oleifera*, reportaram componentes dominantes diferentes. Kayode e Afolayan (2015) referem 16 compostos, sendo o tetracosano (34 %) o componente maioritário (Tabela 3.5). Otham e El-Mongy (2016) identificaram 24 compostos, com o ácido oleico (11 %) como componente dominante (Tabela 3.5). No presente trabalho o ácido oleico (29 %) também foi identificado, embora não sendo o componente principal, enquanto que o tetracosano não foi encontrado (Tabela 3.4).

Dado que, o número de trabalhos existentes sobre voláteis de *M. oleifera* ainda é reduzido e os dados são muito diversos, seria importante fazer um maior número de análises com material de diferentes proveniências e com diferente estado de desenvolvimento.

3.3 Análise elementar

Relativamente à análise elementar das amostras de flores e folhas de *M. oleifera*, o cálcio (Ca), cobre (Cu), o enxofre (S), o ferro (Fe), o fósforo (P), o manganês (Mn), o potássio (K) e o zinco (Zn) foram determinados por Fluorescência de Raio-X (Tabela 3.6).

As concentrações médias dos elementos identificados nas amostras das flores, recolhidas apenas em 2019, foram as seguintes:

Macronutrientes : Ca (0,5 %), K (3 %), P (0,6 %), S (1 %).

Micronutrientes: Cu (8 mg/Kg), Fe (89 mg/Kg), Mn (30 mg/Kg) e Zn (43 mg/Kg).

No caso das folhas, as análises dizem respeito a amostras recolhidas em agosto de 2018 e novembro de 2019, tendo-se observado uma grande variabilidade na concentração dos macronutrientes, casos do Ca em que a concentração aumenta de 2,1 % para 2,7 %, ou o P em que a concentração duplica da amostragem de 2018 para 2019. No caso dos micronutrientes verificam-se aumentos muito pequenos que não são significativos, casos do Cu, Fe e Zn. Exceção feita para o caso do Mn em que a concentração aumentou de 64 mg/Kg para 96 mg/Kg (Tabela 3.6).

Estes aumentos, de maior ou menor expressão, podem estar relacionados com a utilização de folhas com diferentes graus de desenvolvimento. Contudo, as concentrações de Cu, Fe, e Zn, observadas nas amostragens de 2018 e 2019, não são significativamente diferentes para um nível de significância de 95%. Já em relação aos restantes elementos, as diferenças observadas são significativas.

Saliente-se que as flores apresentavam muito mais P, K e Zn, que as folhas. Inversamente os teores das folhas eram bastante mais elevados no que diz respeito ao Ca, Fe e Mn. Em relação ao Cu e ao S, os teores máximos encontrado nas folhas foram de 7,7 mg/Kg e 1,1%, enquanto as concentrações observadas nas flores foram relativamente próximas, *i.e.*, 8,4 mg/Kg e 1,05%, respetivamente.

Tabela 3.6 – Composição elementar de flores e folhas de *M. oleifera*.

Parte da planta	Elementos								
	Cálcio* (Ca)	Cobre (Cu)	Enxofre* (S)	Ferro (Fe)	Fósforo* (P)	Magnésio* (Mg)	Manganês (Mn)	Potássio* (K)	Zinco (Zn)
Flores	0,5 ± 0,01	8,4 ± 0,2	1,05 ± 0,02	88,9 ± 3,61	0,6 ± 0,2	ALD	29,8 ± 1,4	3,2 ± 0,12	43 ± 1,9
Folhas ¹	2,1b ± 0,11	7,4a ± 0,4	0,8b ± 0,02	137a ± 13,0	0,2b ± 0,02	ALD	64b ± 7,1	1,1b ± 0,04	27a ± 4,3
Folhas ²	2,7a ± 0,17	7,7a ± 0,3	1,1a ± 0,02	142a ± 6,4	0,4a ± 0,03	ALD	96a ± 5,1	1,4a ± 0,08	32a ± 1,9

*Os valores médios são expressos em percentagem (%) ± desvio padrão (Ca, S, P, Mg e K) e em mg/Kg ± desvio padrão (Cu, Fe, Mn e Zn). Folhas¹ = amostragem de agosto 2018; Folhas² = amostragem de novembro 2019; valores médios seguidos por letra comum, não são significativamente diferentes para um nível de significância de 95 %; ALD = Abaixo do Limite de Detecção.

Tabela 3.7 – Dados da literatura referente à composição elementar de flores e folhas de *M. oleifera*.

Parte da planta (origem)	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	S	Zn	Referência Bibliográfica
Flores (Quênia)	0,3	6,2	4,7		0,3				31,7	Kumssa et al., 2017
Folhas jovens (Camarões)	0,3-1,0	3,0-4,0	103-148	1,7-3,0	0,3-0,4	27-47	0,4-0,6		18-32	Agamou et al., 2015
Folhas adultas (Camarões)	1,2-1,8	2,5-4,5	164-251	1,1-2,3	0,3-0,6	30-116	0,3-0,6		9-21	Agamou et al., 2015
Folhas (Egipto)	0,5	8,8	94,5	0,03	0,03	52,1	0,1		16,3	El-Sohaimy et al., 2015
Folhas (Egipto)	2,6	8,9	840	1,6		73			26,4	Reboredo et al. 2020
Folhas (Índia)	1,1	5,9	132	2,9	0,3	16,7	0,6		30,1	Stadtlander & Becker 2017
Folhas (Malawi)	2,2	8,2	1239	1,3	0,8	76,9	0,4		21,7	Stadtlander & Becker 2017
Folhas (México)	1,6	9,6	98	1,7	0,28	59,8	0,5	0,9	29	Olson et al., 2016
Folhas (Moçambique)	1,6	10,5	580	1,5		45			29	Reboredo et al., 2020
Folhas (Nicarágua)	2,1	5,4	229	1,9	0,3	71,4	0,3		20,7	Stadtlander & Becker 2017
Folhas (Nigéria)	2,0		282	1,3	0,33		0,2			Zaku et al., 2015
Folhas (Quênia)	1,7	6,8	160		0,5				33,3	Kumssa et al., 2017
Folhas (Tailândia)	2,4	6,6	132	1,9	0,3	79,4	0,3		21	Stadtlander & Becker 2017
Folhas (Uganda)	2,2	5,8	581	1,7	0,4	116	0,2		17,7	Stadtlander & Becker 2017

As concentrações médias são expressas em % (Ca, K, Mg, P, S) ou em mg/Kg (Cu, Fe, Mn, Zn.). No caso de Agamou et al. (2015), indica-se o intervalo de variação.

As referências bibliográficas são bastantes escassas em relação à análise elementar de flores de *M. oleifera*. Apenas Kumssa et al. (2017), reportaram concentrações de Ca (0,3 %), Cu (6,2 mg/Kg), Fe (4,7 mg/Kg) e Zn (31,7 mg/Kg) (Tabela 3.7). No presente trabalho, para os mesmos elementos as seguintes concentrações: 0,5 %, de Ca, 8,4 mg/Kg de Cu, 88,9 mg/Kg de Fe e 43 mg/Kg de Zn (Tabela 3.6), teores substancialmente mais elevados que os anteriormente referidos.

Em relação à análise elementar de folhas de *M. oleifera*, a literatura é mais numerosa (Tabela 3.7), embora a diferenciação entre folhas jovens e adultas não seja geralmente referida. Exceção feita ao trabalho de Agamou et al. (2015) cuja análise mais pormenorizada, que será referida mais adiante.

Para o caso do cálcio (Ca), as concentrações observadas pelos diferentes autores são similares, excepto a verificada por El-Sohaimy et al. (2015) para amostras provenientes do Egipto – 0,5 %. Contrariamente Reboredo et al. (2020) para amostras da mesma proveniência reportaram concentrações muito superiores, concretamente (2,6 %) teor muito próximo da concentração por nós observada para a amostragem de 2019, que foi 2,7 %. Os trabalhos de Zaku et al. (2015) e Stadtländer & Becker (2017) reportaram teores de 2 e 2,1 %, respetivamente, para amostras com origem na Nigéria e Nicarágua, concentrações semelhantes à amostragem de 2018 (2,1 %).

Zaku et al. (2015) e Stadtländer & Becker (2017) reportaram concentrações de fósforo (P) para amostras provenientes da Nigéria e Uganda, idênticas às encontradas neste trabalho (0,2 %) para a amostragem de 2018, enquanto amostras com origem no Malawi (Stadtländer & Becker, 2017) apresentavam teores idênticos à concentração máxima detetada neste trabalho para a amostragem de 2019.

No caso do potássio (K), as concentrações por nós verificadas, que variaram entre 1,1 % e 1,4 %, são em geral concordantes com os teores observados por outros autores (Zaku et al., 2015; Stadtländer & Becker, 2017; Reboredo et al., 2020), para amostragens provenientes da Nigéria, Malawi e Moçambique, respetivamente, embora se possa observar uma grande variabilidade (Tabela 3.7). Os teores de enxofre (S) encontrados neste trabalho que variaram entre 0,8 % para a amostragem de 2018 e 1,1 % para a amostragem do ano seguinte, foram concordantes com os teores observados por Olson et al. (2016) em amostras provenientes do México (Tabela 3.7).

Em relação ao Cu, os teores por nós observados variaram entre 7,4 e 7,7 mg/Kg, que em geral é concordante com os dados de diversos autores que reportaram concentrações sempre inferiores a 10 mg/Kg (Tabela 3.7). Apenas Agamou et al. (2015), referem teores de Cu inferiores a 4mg/Kg. Os

teores foliares de Mn observados por diversos autores apresentam grande variabilidade. Olson et al. (2016) observaram teores de Mn de 59 mg/Kg, para folhas com proveniência do México, teores muito semelhantes aos encontrados neste trabalho (64 mg/Kg) para a amostragem de 2018. Na amostragem de 2019 o teor de Mn aumentou para 96 mg/Kg, concentração relativamente próxima da observada por Stadlander & Becker (2017) para amostras provenientes do Uganda - 116 mg/Kg.

Para o caso do Zn, as concentrações por nós verificadas, que variam entre 27-32 mg/Kg (Tabela 3.6), são também concordantes com as observadas por outros autores (Kumssa et al., 2017; Olson et al., 2016; Reboredo et al., 2020). Apesar da grande variabilidade nas concentrações de Fe (ver Tabela 3.7) Stadlander & Becker (2017) reportaram para amostras provenientes da Índia e Tailândia concentrações de 132 mg/Kg, valor próximo do teor mínimo por nós observado (137 mg/Kg).

As diferenças reportadas pelos diferentes autores dão suporte a que a origem geográfica e as condições edafo-climáticas, para além de fatores inerentes à própria planta, são determinantes na absorção de macro e micronutrientes e posterior translocação para órgãos aéreos.

Em resumo, podemos concluir que a *M. oleifera* cultivada no sul de Portugal, apresenta as concentrações mais elevadas de Mn, S e Zn, por comparação aos trabalhos referidos, sendo também uma importante fonte de Ca e P.

Como anteriormente referido, apenas Agamou et al. (2015) reportaram diferenças de composição elementar (macro e micronutrientes) entre folhas jovens e adultas de *M. oleifera*, recolhidas em oito regiões diferentes de Camarões, salientando que essa composição é fortemente influenciada pela localização e pelo estágio de desenvolvimento da planta.

Igualmente a mudança de estações pode ser responsável por alterações significativas na concentração de Ca em folhas de *Moringa oleifera* recolhida em Taiwan. O teor de Ca aumentou de 0,87 % no verão para 1,86 % no Inverno (Shih et al., 2011).

As folhas jovens de *M. oleifera* apresentaram concentrações mais elevadas de K, P e Zn do que as folhas adultas, acontecendo o inverso em relação ao Ca, Cu, Fe e Mn. O aumento dos teores dos micronutrientes (com exceção do Zn) que acompanha o desenvolvimento foliar é particularmente relevante em relação ao Fe e Mn com aumentos de 126 para 207 mg/Kg e de 32,8 para 58,6 mg/Kg, respetivamente (Agamou et al., 2015). Em relação ao Ca, os teores quase triplicam das folhas jovens para as adultas, enquanto para o caso do Cu o valor médio aumenta de 3,4 para 3,8 mg/Kg (Agamou

et al. *op. cit.*). No que diz respeito ao decréscimo, K e Zn baixam de 2,4 para 1,9 % e 25 para 16 mg/Kg, respetivamente, enquanto o P se mantém quase constante.

O acréscimo das concentrações foliares de Ca e Mn, que se observou da amostragem de 2018 para a de 2019, não é *per si* indicativo que se tratavam de folhas jovens na primeira colheita, tendo apenas em atenção o estudo de Agamou et al. (2015) que observaram aumentos nos teores dos mesmos elementos, das folhas jovens para as folhas adultas. Contudo, os mesmos autores evidenciaram um decréscimo nos teores de K e no Zn em paralelo com o desenvolvimento foliar, enquanto no nosso caso, os teores dos elementos citados aumentaram do primeiro para o segundo ano de amostragem, pelo que não podemos concluir que a análise incidiu sobre folhas jovens em 2018.

A Tabela 3.8 foi elaborada com base na literatura disponível e nela se indicam os teores considerados adequados para tecidos vegetais, em comparação com os teores verificados nas amostras do presente trabalho. Os nossos teores são apresentados sob a forma de intervalos de variação para o caso das folhas, sendo apresentada a concentração média no caso das flores.

Tabela 3.8 – Comparação entre as concentrações do presente trabalho e as concentrações consideradas adequadas para a maioria dos tecidos vegetais.

Elementos	A	B	C	D
Micronutrientes				
Cobre	7,4-7,7	8,4	6	5-30
Ferro	137-141,5	88,9	100	220-1200
Manganês	64-96	29,8	50	30-300
Zinco	27-32	43	20	27-150
Macronutrientes				
Cálcio	2,1-2,7	0,5	0,5	
Enxofre	0,8-1,1	1,0	0,1	
Fósforo	0,2-0,4	0,6	0,2	
Potássio	1,1-1,4	3,2	1	

A – variação das concentrações foliares de *M. oleifera*. B – concentração observadas nas flores de *M. oleifera*. C – concentrações consideradas adequadas para a maioria dos tecidos vegetais (Raven et al., 2005). D – concentrações de microelementos nas folhas adultas para a generalidade das plantas (Kabata-Pendias, 2011). Os teores são expressos em mg/Kg (Cu, Fe, Mn, Zn) e em % no caso Ca, K, P e S.

Em comparação com os diferentes dados bibliográficos, para a generalidade das plantas, podemos dizer que a *M. oleifera* (folhas e flores) é uma excelente fonte de cálcio, enxofre, fósforo e de potássio. Particularmente no caso do Ca, as folhas apresentam valores cinco vezes superiores à maioria das plantas (2,1-2,7 %), para além de que, as flores são também uma excelente fonte de K e que apresentam concentrações 3.2 vezes superiores.

As concentrações de S nas folhas e flores de *M. oleifera* são cerca de 10 vezes superiores, às consideradas adequadas para tecidos vegetais (Raven et al., 2005)., enquanto os teores de P nos mesmos órgãos poderão ser entre duas a três vezes superiores.

No que diz respeito ao Cu e ao Fe, os teores por nós observados poderão estar ligeiramente acima dos expressos por Raven et al. (2005), embora o Mn no caso das folhas ou o Zn em ambos os casos, estejam muito além dos valores definidos e considerados adequados para tecidos vegetais. De qualquer modo, as concentrações dos micronutrientes foliares estão dentro dos intervalos de variação definidos por Kabata-Pendias (2011) para os mesmos órgãos.

Deve-se ainda salientar que o Cu foi detetado nas flores (8,4 mg/Kg) e folhas de (7,4-8,4 mg/Kg) da *M. oleifera* evidenciando uma eficiente capacidade de absorção radicular e translocação para órgãos aéreos (Tabela 3.8) apesar de não ter sido detetado no solo - não significa que não exista, mas estava abaixo do limite de deteção do XRF portátil.

Como anteriormente referido, *Moringa oleifera* Lam. é uma espécie arbórea rica em minerais e medicinalmente importante com uma vasta gama de propriedades nutricionais e medicinais (Gopalakrishnan et al., 2016; Kumssa et al., 2017; Gupta et al., 2018). Por exemplo, as espécies *Moringa oleifera* e *Moringa stenopetala* são habitualmente cultivadas por agregados familiares, no Quénia e Sul da Etiópia, respetivamente. As partes comestíveis destas espécies são ricas em aminoácidos, vitaminas e minerais, especialmente selénio. De facto, todos os agregados familiares no Sul da Etiópia e 79 % dos agregados no Quénia usam as folhas de *Moringa* como fonte de alimento. As formas de consumo variam, desde o uso de folhas frescas fervidas, até folhas maceradas e reduzidas a pó usadas no chá ou misturadas com outras preparações (Kumssa et al., 2017).

Neste contexto interessa salientar que dadas as deficiências nutricionais em muitas partes do mundo, o uso de folhas de *Moringa oleifera* pode ajudar a suprir deficits de vários elementos, indispensáveis à fisiologia humana. No nosso caso, tendo em atenção as concentrações observadas podemos concluir que o uso das folhas pode constituir importante fonte de Ca e em menor escala Fe, S e Mn.

3.4 Perfil nutricional

Relativamente ao perfil lipídico das amostras das flores e folhas de *M. oleifera*, foram obtidos por Cromatografia Gasosa (GC-FID) tendo sido determinado os ácidos gordos totais (AGT), a abundância relativa de cada um dos ácidos gordos e o grau de insaturação (DBI), que se encontram de forma mais detalhada na Tabela 3.9, por ordem de eluição e os respetivos perfis cromatográficos na Figura 3.9.

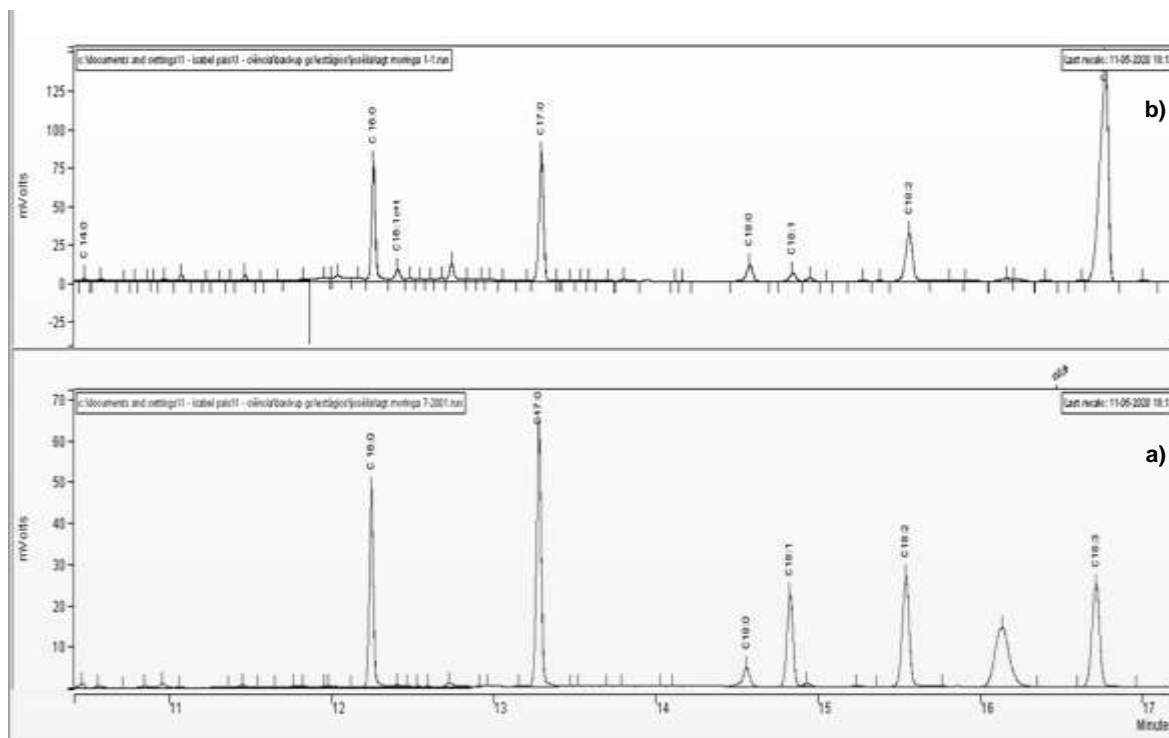


Figura 3.9 – Perfis cromatográficos em GC-FID das a) flores; b) folhas de *Moringa oleifera*.

Em relação aos ácidos gordos totais (AGT), que expressam o conteúdo de lípidos, não se observaram diferenças significativas entre as flores e as folhas, no entanto, o perfil dos ácidos gordos (mol %) é distinto entre as duas estruturas vegetais (Tabela 3.9).

Tabela 3.9 – Composição total e relativa dos ácidos gordos das flores e folhas de *Moringa oleifera*.

Componentes	AG de <i>Moringa oleifera</i>	
	Flores	Folhas
Ácidos gordos totais	1,32a ± 0,15	1,44a ± 0,16
Ácido mirístico (C14:0)	0,59a ± 0,03	0,76a ± 0,13
Ácido palmítico (C16:0)	19,30a ± 1,56	13,33b ± 0,68
Ácido palmitoleico (C16:1)	0,09b ± 0,00	0,19a ± 0,03
Ácido esteárico (C18:0)	4,61a ± 0,76	2,13b ± 0,32
Ácido oleico (C18:1)	13,15a ± 1,49	1,44b ± 0,10
Ácido linoleico (C18:2)	39,19a ± 3,89	19,67b ± 2,24
Ácido linolénico (C18:3)	23,06b ± 1,31	62,43a ± 1,63
PUFAs	62,25	82,1
DBI	6,75b ± 0,56	14,29a ± 0,79

Os valores médios são expressos em mg/g de peso seco ± desvio padrão para ácidos gordos totais (AGT) e em %mol ± desvio padrão para cada fração. As amostras de flores e de folhas correspondem n = 6. As letras diferentes (a,b) correspondem a diferenças significativas (ANOVA de fator único, p≤0,05). DBI – do inglês *double bond index*.

Os ácidos gordos polinsaturados (PUFAs), do ponto de vista nutricional, são os ácidos gordos mais abundantes, num total de 82,1 %mol e 62,2 %mol, nas folhas e nas flores, respetivamente.

O DBI° (*double bond index*) indica o grau de insaturação dos AGT. Os resultados mostraram um maior DBI nas folhas, resultante da elevada %mol de ácido linolénico (C18:3) (Tabela 3.9).

As flores e as folhas de *M. oleifera* apresentaram pequenas quantidades de ácidos gordos saturados e um elevado teor de ácidos gordos mono- e polinsaturados, o que poderá contribuir para diminuição de inúmeros processos inflamatórios envolvidos na maioria das doenças da população dos países desenvolvidos (Tabela 3.9).

Na amostra das flores, os ácidos gordos mais representativos são o ácido linoleico (C18:2) com 39,2 %mol, seguido do ácido linolénico (C18:3) e do ácido palmítico (C16:0) com 23,1 %mol e 19,3 %mol, respetivamente (Tabela 3.9).

Relativamente aos ácidos gordos presentes na amostra das folhas, observamos que o ácido linolénico (C18:3) é o que apresenta uma maior abundância relativa (62,4 %mol), seguido do ácido

linoleico (C18:2) e do ácido palmítico (C16:0) com 19,7 %mol e 13,3 %mol, respetivamente.

Observamos ainda que os ácidos palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1) e linoleico (C18:2) se encontram em maior quantidade nas flores que nas folhas, situação igualmente reportada por Amaglo et al. (2010) e Saini et al. (2014). Os mesmos autores observaram ainda que o ácido linolénico (C18:3) se encontra em maior quantidade nas folhas que nas flores, o que é concordante com os resultados por nós obtidos. Os mesmos autores reportaram valores de MUFAs e PUFAs muito similares, contrariamente às nossas observações em que os teores de PUFAs são claramente superiores em relação aos MUFAs (Tabela 3.9 e Tabela 3.10).

Tabela 3.10 – Dados da literatura referente às frações lipídicas das flores e folhas de *M. oleifera*.

Componentes	Amaglo et al. 2010 (Gana)	Saini et al. 2014 (Índia)	Amaglo et al. 2010 (Gana)	Amaglo et al. 2010 (Gana)	Lalas et al. 2017 (Grécia)	Kunyanga et al. 2013 (Quénia)	Moyo et al. 2011 (África Sul)	Saini et al. 2014 (Índia)
	Flores	Flores	Folhas	Folhas*	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas
Ácido caprílico (C8:0)		0,21						0,57
Ácido cáprico (C10:0)		0,07			0,11 ± 0,01		0,07 ± 0,06	0,01
Ácido láurico (C12:0)		0,20					0,58 ± 0,4	0,12
Ácido mirístico (C14:0)	0,16	1,45	0,13	0,14	1,34 ± 0,09		3,66 ± 1,6	0,93
Ácido palmítico (C16:0)	33,6	24,25	26,0	25,3	17,92 ± 0,90	20,9 ± 0,0	11,79 ± 0,6	18,39
Ácido palmitoleico (C16:1)	0,22	0,27	0,56	0,55	0,37 ± 0,08		0,17 ± 0,05	2,52
Ácido esteárico (C18:0)	5,54	5,87	4,33	3,02	6,14 ± 0,12	2,1 ± 0,35	2,13 ± 0,4	4,32
Ácido oleico (C18:1)	29,0	24,09	14,0	6,81	7,46 ± 0,15	2,2 ± 0,01	3,96 ± 2,0	3,30
Ácido linoleico (C18:2)	18,6	15,48	15,9	11,4	9,03 ± 0,19	6,8 ± 0,0	7,44 ± 0,01	11,01
Ácido linolénico (C18:3)	10,6	18,82	37,3	50,8	52,24 ± 2,0	60,4 ± 0,04	44,77 ± 2,8	54,27
LT		1,92			5,6 ± 0,4	1,57 ± 0,02	6,50 ± 1,0	4,67
MUFAs	29,8	30,94	14,6	7,64	8,54 ± 0,23	2,2**	4,48 ± 1,9	6,77
PUFAs	29,2	34,29	53,2**	62,2**	61,27 ± 2,2	67,2**	52,21 ± 2,8	65,28

Os valores médios são expressos em %mol ± desvio padrão para cada fração. LT – lípidos totais; MUFAs – ácidos gordos monoinsaturados; PUFAs – ácidos gordos polinsaturados.* amostra recolhida em fase de floração.** elaborado com base nos dados dos autores.

Na Tabela 3.10 encontram-se alguns dados bibliográficos relativamente às frações lipídicas de flores e folhas de *M. oleifera*.

Folhas de *M. oleifera* recolhidas no Gana em diferentes fases do ciclo vegetativo (floração e não floração) revelaram frações muito idênticas para os ácidos gordos saturados (C14:0, C16:0, C18:0), enquanto que o ácido oleico (C18:1) na fase de floração apresenta um decréscimo de 50 % (Amaglo et al., 2010). Relativamente aos PUFAs, na fase de floração, apresentaram valores ligeiramente superiores e que estão enquadrados com todos os outros autores (Moyo et al., 2011; Kunyanga et al., 2013; Saini et al., 2014; Lalas et al., 2017).

A avaliar por estes resultados, parece não ser relevante se a *M. oleifera* se encontra ou não em floração e que não influenciam nos teores de ácidos gordos polinsaturados (PUFAs) nas folhas.

As nossas amostras de folhas de *M. oleifera*, foram igualmente colhidas em fase de floração e os ácidos gordos saturados e os ácidos gordos monoinsaturados (MUFAs) encontram-se cerca de 50 % inferiores ao observado por Amaglo et al. (2010), enquanto que os ácidos gordos polinsaturados (PUFAs) bastante acima, 82,1 %mol (Tabela 3.9 e Tabela 3.10).

Através da análise dos trabalhos dos autores apresentados na Tabela 3.10, podemos dizer que as amostras com origem no Gana apresentam os valores mais elevados de ácidos gordos saturados (≈ 30 %mol) e que as de origem na África do Sul, os mais baixos (13,92 %mol) e que neste caso também os MUFAs e PUFAs mais baixos (4,48 %mol) e (52,21 %mol), respetivamente.

Assim podemos dizer que as flores e folhas de *M. oleifera* de Sousel constituem uma excelente fonte de ácidos gordos polinsaturados (PUFAs). Apresentam os valores mais elevados de PUFAs (62,25 %mol e 82,1 %mol, respetivamente) e ainda os mais baixos de ácidos gordos saturados (24,5 %mol, 16,22 %mol) e de ácidos gordos monoinsaturados (MUFAs) (13,24 %mol e 1,63 %mol), (Tabela 3.9 e Tabela 3.10).

Os ácidos gordos polinsaturados (PUFAs) são muito importantes para a saúde do homem e animais, pois eles são precursores dos PUFAs de cadeia longa omega 3 e estão envolvidos na biossíntese dos eicosanóides com importante biorregulação de muitos processos celulares (Lalas et al., 2017).

4. CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS

Esta dissertação de mestrado teve como objetivo fazer a caracterização dos voláteis das folhas e flores de *M. oleifera* cultivada em Portugal e a avaliação do perfil nutricional.

O presente estudo apresenta os resultados em relação aos OEs isolados das folhas e flores de *M. oleifera*, concluindo-se que os grupos dominantes nestes dois tipos de extratos são os alcanos e os ácidos gordos. Será necessário efetuar mais análises para confirmar os resultados que obtivemos, nomeadamente com quantidades mais significativas de material vegetal, para além de se efetuar a comparação com exemplares de outras proveniências e com diferentes estadios de desenvolvimento.

Em virtude de existirem alguns elementos que se encontraram abaixo do limite de deteção do equipamento, ainda assim a análise elementar apresenta alguns nutrientes importantes. Portanto as análises das folhas e flores de *M. oleifera*, através de EDXRF, permitiu concluir que as folhas são uma fonte importante de cálcio, ferro, enxofre e manganês, enquanto que as flores são uma excelente fonte de potássio.

Com base na análise dos resultados apresentados e na literatura pesquisada, a localização geográfica, o estadio de desenvolvimento, entre outros, influencia a riqueza nutricional das folhas e flores de *M. oleifera*. Sendo por isso importante a sua padronização. No futuro são necessários estudos em humanos com extratos padronizados para que seja possível de forma credível dar suporte científico às alegações que lhes são atribuídas, mas que ainda carece de trabalhos *in vitro/in vivo*.

As folhas e as flores de *M. oleifera* apresentam um alto teor de ácidos gordos polinsaturados (PUFAs), o que poderá contribuir para a modulação de diversos processos inflamatórios, pelo que o consumo de produtos enriquecidos poder-se-á tornar promissor na mitigação de algumas patologias presentes nas sociedades mais desenvolvidas.

Embora se revele bastante importante a fortificação ou enriquecimento de alimentos com *M. oleifera* no combate à fome nos países mais pobres e na mitigação de algumas patologias que acometem as sociedades mais desenvolvidas, são necessários estudos que certifiquem a sua digestibilidade e disponibilidade dos nutrientes, ou seja, a sua biodisponibilidade.

Não foi objeto de estudo, neste trabalho, mas será igualmente importante identificar e caracterizar os inúmeros fitoquímicos dos diferentes extratos, tal como os que se encontram presentes nos alimentos enriquecidos com *M. oleifera*. Por isso devem ser determinados, caracterizados e

comprovadas as alegações científicas que lhes são atribuídas para a segurança e benefício de todos os consumidores.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adebayo I., Arsad H., Samian M. (2018) “The phenolics, total flavonoids, antioxidant capacities, and volatile compounds gas chromatography-mass spectrometry profiling of *Moringa oleifera* ripe seed polar fraction”. *Pharmacognosy Magazine*; 14(54): 191-194. https://doi.org/10.4103/pm.pm_212_17
- Agamou J., Fombang E., Mbofung C. (2015) “Particular benefits can be attributed to *Moringa oleifera* Lam leaves based on origin and stage of maturity”. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*; 3(6): 541-555. [https://doi.org/10.18006/2015.3\(6\).541.555](https://doi.org/10.18006/2015.3(6).541.555)
- Amaglo N., Bennett R., Lo Curto R., Rosa E., Turco V., Giuffrida A., Lo Curto A., Crea F., Timpo G. (2010) “Profiling selected phytochemicals and nutrients in diferente tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana”. *Food Chemistry*; 122(4): 1047-1054. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.073>
- Anwar F., Bhanger M. (2003) “Analytical characterization of *Moringa oleifera* seed oil grown in temperate regions of Pakistan”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 51(22): 6558-6563. <https://doi.org/10.1021/jf0209894>
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008) “Biological effects of essential oils – A review”. *Food and Chemical*; 46(2): 446-475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Barreto M., Freitas J., Silveira E., Bezerra A., Nunes E., Gramosa N. (2009) “Constituintes químicos voláteis e não-voláteis de *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae”. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*; 19(4): 893-897. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000600018>
- Bayala B., Bassole I., Scifo R., Gnoula C., Morel L., Lobaccaro J., Simpore J. (2014) “Anticancer activity of essential oils and their chemical components – A review”. *American Journal of Cancer Research*; 4(6): 591-607
- Bhattacharya A., Tiwari P., Sahu P., Kumar S. (2018) “A review of the phytochemical and pharmacological characteristics of *Moringa oleifera*”. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*; 10(4): 181-191. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_126_18
- Bolarinwa I., Aruna T., Raji A. (2017) “Nutritive value and acceptability of bread fortified moringa seed powder”. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*; 18(2): 195-200 <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.05.002>
- Bonito, A. (2016) “Análise do impacto da medida sistemas forrageiros extensivos nas características físico-químicas do solo do distrito de Portalegre”. Dissertação de mestrado em agricultura sustentável. Instituto Politécnico de Portalegre, 98 p.
- CABI, 2020. *Moringa oleifera*. In: *Invasive Species Compendium*. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc. [acedido em janeiro 2020]
- Cardoso P., Mateus T., Velu G., Singh R., Santos J., Carvalho M., Lourenço V., Lidon F., Reboredo F., Guerra M. (2018) “Localization and distribution of Zn and Fe in grain of biofortified bread wheat lines through micro- and triaxial -X -ray fluorescence spectrometry”. *Spectrochimica Acta Part B*; 141: 70-79. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2018.01.006>
- Cavaleiro C. (2007) “Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais”. Curso teórico-prático, pp. 55-62, 3ª Ed., Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa – Centro de Biotecnologia Vegetal, Lisboa, Portugal.
- Chuang P., Lee C., Chou J., Murugan M., Shieh B., Chen H. (2007) “Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam”. *Bioresourse Technology*; 98: 232-236.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.11.003>

- Council of Europe (COE), (2010). European Directorate for the Quality of Medicines in European Pharmacopoeia, 7th Edition, Strasbourg, France, pp 241
- Devlin T. (2011) “Manual de bioquímica com correlações clínicas”. Tradução da 7ª edição americana. Editora Edgard Blücher Ltda. 1252 p. ISBN 978-85-212-0592-0
- Diaz M. e Retamal M. (2018) “Editorial: Modulation of ion channels and ionic pumps by fatty acids: Implications in physiology and pathology”. *Frontiers in Physiology*; 9:1625. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01625>
- El Sohaimey S., Hamad G., Mohamed S., Amar M., Al-Hindi R. (2015) “Biochemical and functional properties of *Moringa oleifera* leaves and their potential as a functional food”. *Global Advanced Research Journal of Agricultural Science*; 4(4): 188-199.
- Fahey J. (2005) “*Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic and prophylactic properties. Part 1”. *Trees for Life Journal*; 1(5). <https://doi.org/10.1201/9781420039078.ch12>
- Ferreira A. (2000) “Dados geoquímicos de base de sedimentos fluviais de amostragem de baixa densidade de Portugal continental: Estudo de factores de variação regional”. Dissertação de doutoramento em geociências. Universidade de Aveiro, 467 p.
- Figueiredo A., Barroso J., Pedro L. (2007) “Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais”. Curso teórico-prático, pp. 1-18, 3ª Ed., Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa – Centro de Biotecnologia Vegetal, Lisboa, Portugal.
- Frayn K. (2012) “Regulação metabólica uma perspetiva focada no organismo humano”. Tradução da faculdade de medicina da Universidade do Porto. 1ª Ed. U.Porto editorial, 596 p. ISBN 978-989-8265-92-0
- Gopalakrishnan L., Doriya K., Kumar DS. (2016) “*Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application”. *Food Science and Human Wellness*; 5(2): 49-56
- Guimarães S., Moura D., Silva P. (2014) “Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas”. Manual de farmacologia e farmacoterapia. 6ª Ed. Porto Editora, 1008 p. ISBN 978-972-0-01794-9
- Gumz M., Rabinowitz L., Wingo C. (2015) “Na integrated view of potassium homeostasis”. *The New England Journal of Medicine*; 373(1): 60-72. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1313341>
- Gupta N., Yadav K., Kumar V., Kumar S., Chadd R., Kumar A. (2018) “Trace elements in soil-vegetables interface: Translocation, bioaccumulation, toxicity and amelioration – A review”. *Science of the Total Environment*; 651: 2927-2942. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.047>
- Gupta S., Jain R., Kachhwaha S., Kothari S. (2018) “Nutritional and medicinal applications of *Moringa oleifera* Lam. – Review of current status and future possibilities”. *Jornal of Herbal Medicine*; 11: 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2017.07.003>
- Haouvang L., Albert N., Martin Y., Mbaiguinam M. (2017) “Growth response of *Moringa oleifera* Lam. as affected by various amounts of compost under greenhouse conditions”. *Annals of Agricultural Sciences*; 62: 221-226. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2017.12.004>
- Horning K., Caito S., Tipps K., Bowman A., Aschner M. (2015) “Manganese is essential for neuronal health”. *Annual Review of Nutrition*; 35(1): 71-108. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071714-034419>
- Ijarotimi O., Adeoti O., Ariyo O. (2013) “Comparative study on nutrient composition, phytochemical, and functional characteristics of raw, germinated, and fermented *Moringa oleifera* seed flour”. *Food Science & Nutrition*; 1(6): 452-463. <https://doi.org/10.1002/fsn.3.70>

ISO 9235:2013. Aromatic natural raw materials. Vocabulary.

Kabata-Pendias, A. (2011) “Trace elements in soils and plants”. Fourth Edition, CRC Press, Taylor & Francis Group, New York.

Kayode R., Afolayan A. (2015) “Cytotoxicity and effect of extratction methods on the chemical composition of essential oils of *Moringa oleifera* seeds”. Journal of Zhejiang University- SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology); 16(8): 680-689. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1400303>

Kumssa D., Joy E., Young S., Odee D., Ander E., Broadley M. (2017) “Variation in the mineral element concentration of *Moringa oleifera* Lam. and *M. stenopetala* (Bak. F.) cuf.: Role in human nutrition”. PLoS ONE; 12(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175503>

Kunyanga C., Imungi J., Vellingiri V. (2013) “Nutritional evaluation of indigenous foods whith potential food-based solution to alleviate hunger and malnutrition in Kenya”. Journal of Applied Biosciences; 67: 5277-5288.

Lalas S., Athanasiadis V., Karageorgou I., Batra G., Nanos G., Makris D. (2017) “Nutritional characterization of leaves and herbal tea of *Moringa oleifera* cultivated in Greece”. Journal of Herbs & Medicinal Plants; 23(4): 320-333. <https://doi.org/10.1080/10496475.2017.1334163>

Leone A., Fiorillo G., Criscuoli F., Ravasenghi S., Santagostini L., Fico G., Spadafranca A., Battezzati A., Schiraldi A., Pozzi F., Lello S., Filippini S., Bertoli S. (2015) “Nutritional characterization and phenolic profiling of *Moringa oleifera* leaves grown in Chad, Sahrawi refugee camps, and Haiti”. International Journal of Molecular Sciences; 16: 18923-18937. <https://doi.org/10.3390/ijms160818923>

Liang L., Wang C., Li S., Chu X., Sun K. (2019) “Nutritional compositions of Indian *Moringa oleifera* seed and antioxidant activity of its polypeptides”. Food Science & Nutrition; 7: 1754-1760. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1015>

Lin P., Sermersheim M., Li H., Lee P., Steinberg S., Ma J. (2017) “Zinc in wound Healing modulation”. Nutrients; 10(1): 16. <https://doi.org/10.3390/nu10010016>

Lu S. (2013) “Glutathione synthesis”. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects; 1830(5): 3143-3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>

Lucchini R., Aschner M., Landrigan P., Cranmer J. (2018) “Neurotoxicity of manganese:indications for future research and public health intervention from the manganese 2016 conference”. Neurotoxicology; 64:1-4. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2018.01.002>

Marrufo T., Nazzaro F., Mancini E., Fratianni F., Coppola R., Martino L., Agostinho A., Feo V. (2013) “Chemical composition and biological activity of the essential oil from leaves of *Moringa oleifera* Lam. cultivated in Mozambique”. Molecules Journal; 18: 10989-11000. <https://doi.org/10.3390/molecules180910989>

Martins Jr. A., Morcillo P., Ijomone O., Venkataramani V., Harrison F., Lee E., Bowman A., Aschner M. (2019) “New insights on the role of manganese in Alzheimer’s disease and Parkinson’s disease”. International Journal of Environmental Research and Public Health; 16(19): 3546. <https://doi.org/10.3390/ijerph16193546>

Mazliak P. (1983) “Plant membrane lipds: Changes and alterations during aging and senescence”. Lieberman M. (Ed.) Post-Harvest Physiology and Crop Preservation. Nato Advanced Study Institutes Series (Series A: Life Sciences), vol 46. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-0094-7_5

Mendes A. (2007) “Introdução à Fertilidade do Solo” Curso de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas; UFBA, Brasil.

- Moyo B., Masika P., Hugo A., Muchenje V. (2011) “Nutritional characterization of *Moringa (Moringa oleifera* Lam.) leaves”. African Journal of Biotechnology; 10(60): 12925-12933. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1599>
- Mukunzi D., Nsor-Atindana J., Xiaoming Z., Gahungu A., Karangwa E., Mukamurezi G. (2011) “Comparison of volatile profile of *Moringa oleifera* leaves from Rwanda and China using HS-SPME”. Pakistan Journal of Nutrition; 10 (7): 602-608. <https://doi.org/10.3923/pjn.2011.602.608>
- Nair V., Roopalatha C. (2013) “Phytochemical analysis of successive reextracts of the leaves of *Moringa oleifera* Lam.”. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences; 5 (3): 629-634
- NP EN ISO 9235:2016. Matérias-primas aromáticas naturais. Vocabulário.
- Olson M., Sankaran R., Fahey J., Grusak M., Odee D., Nouman W. (2016) “Leaf protein and mineral concentrations across the miracle tree genus *Moringa*”. PLoS ONE; 11(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159782>
- Olszewer E. (2008) “Neurotransmissores em medicina”. 2ª Ed. Ícone editora, 200 p. ISBN 978-85-274-0997-1
- Othman A. e El-Mongy A. (2016) “Characterization and antimicrobial effect of *Moringa oleifera* and *Moringa peregrina* essential oils against some pathogenic bacteria”. Egyptian Journal of Botany; 56(3): 913-924. <https://doi.org/10.21608/EJBO.2016.4024>
- Oyeyinka A., Oyeyinka S. (2018) “*Moringa oleifera* as a food fortificant: Recent trends and prospects”. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences; 17(2): 127-136. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.02.002>
- Paschoal V., Marques N., Brimberg P., Diniz S. (2008) “Suplementação funcional magistral dos nutrientes aos compostos bioativos”. Coleção Nutrição Clínica Funcional, 1ª Ed. VP Editora, 496 p. ISBN 978-85-60880-01-0
- Passeri G., Vescovini R., Sansoni P., Galli C., Franceschi C., Passeri M., IMUSCE (2009) “Calcium metabolismo and vitamin D in the extreme longevity”. Europe PMC; 43(2):79-87. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2007.06.013>
- Passos R., Santos D., Santos B., Souza D., Santos J., Silva G. (2012) “Qualidade Pós-colheita da *Moringa oleifera* Lam utilizada na forma *in natura* e seca”. Revista GEINTEC Gestão, Inovação e Tecnologias; 3 (1): 113-120. <https://doi.org/10.7198/S2237-0722201300010010>
- Portela E. e Abreu M. (2018) “Fixação do potássio nos solos portugueses”. SCAP- Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal. Revista de Ciência Agrária; 41(3): 569-591
- Raven P., Evert R., Eichhorn S. (2005) “Biology of Plants”. 7th Edition, W. H. Freeman and Company Publishers, New York. ISBN: 0-7167-1007-2
- Reboredo F. (2012) “Zinc compartmentation in *Halimione portulacoides* (L.) Aellen, and some effects on leaf ultrastructure”. Environmental Science and Pollution Research 19(7): 2644-2657. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0757-8>
- Reboredo F., Barbosa A., Silva M., Carvalho M., Santos J., Pessoa M., Lidon F., Ramalho J., Guerra M. (2020) “Mineral content of food supplements of plant origin, by energy dispersive X-ray fluorescence: A risk assessment”. Exposure & Health. <https://doi.org/10.1007/s12403-020-00354-9>
- Rodan A. (2017) “Potassium: friend or foe?”. Pediatric Nephrology; 32(7): 1109-1121. <https://doi.org/10.1007/s00467-016-3411-8>
- Rodríguez-Perez C., Mendiola J., Quirantes-Piné R., Ibáñez E., Segura-Carretero A. (2016) “Green downstream processing using supercritical carbon dioxide, CO₂-expanded ethanol and pressurized hot water

- extractins for recovering bioactive compounds from *Moringa oleifera* leaves”. The Journal of Supercritical Fluids; 116: 90-100. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.05.009>
- Russo R., Corasaniti M., Bagetta G., Morrone L. (2015) “Exploitation of cytotoxicity of some essential oils for translation in cancer Therapy”. Hindawi Publishing Corporation, Evidence-based complementary and alternative medicine. <https://doi.org/10.1155/2015/397821>
- Saa R., Fombang E., Ndjantou E., Njintang N. (2019) “Treatments and uses of *Moringa oleifera* seeds in human nutrition: A review”. Food Science & Nutrition; 7: 1911-1919. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1057>
- Saini R., Shetty N., Girighar P. (2014) “GC-FID/MS Analysis of fatty acids in Indian cultivars of *Moringa oleifera*: Potential sources of PUFA”. Journal of American Oil Chemists’ Society; 91(6) :1029-1034. <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2439-9>
- Saini R., Sivanesan I., Keum Y. (2016) “Phytochemicals of *Moringa oleifera*: a review of their nutritional therapeutic and industrial significance”. 3 Biotech; 6: 203. <https://doi.org/10.1007/S13205-016-0526-3>
- Sanna A., Firinu D., Zavattari P., Valera P. (2018) “Zinc status and autoimmunity: A systematic review and meta-analysis”. Nutrients; 10(1): 68. <https://doi.org/10.3390/nu10010068>
- Scotti-Campos P., Pais I., Partelli F., Batista-Santos P., Ramalho J. (2014) “Phospholipids profile in chloroplasts of Coffea spp. Genotypes differing in cold acclimation ability”. Journal of Plant Physiology; 171 (3-4): 243-249. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.07.007>
- Sharifi-Rad J., Sureda A., Tenore G., Daglia M., Sharifi-Rad M., Valussi M., Tundis R., Sharifid-Rad M., Loizzo M., Ademiluyi A., Sharifi-Rad R., Ayatollahi S., Iriti M. (2017) “Biological activities of essential oils: from plant chemoeology to traditinal Healing systems”. Molecules; 22(1): 70. <https://doi.org/10.3390/molecules22010070>
- Shih M., Chang C., Kang S., Tsai M. (2011) “Effect of different parts (leaf, stem and stalk) and seasons (summer and winter) on the chemical compositions and antioxidant activity of *Moringa oleifera*”. International Journal of Molecular Sciences; 12: 6077-6088. <https://doi.org/10.3390/ijms12096077>
- Sousa M. (2015) “Paisagem do concelho de Sousel – a procura de uma identidade”. Relatório de Mestrado em Arquitetura Paisagista, Universidade de Évora, Departamento de paisagem, ambiente e ordenamento. 129 p.
- Souza N., Baptistella A., Paschoal V., Naves A., Massunaga N., Carnauba R., Hubscher G. (2016) “Nutrição funcional: Princípios e aplicação na prática clínica”. Acta Portuguesa de Nutrição; 7: 34-38. <https://doi.org/10.21011/apn.2016.0706>
- Stadtlander T. & Becker K. (2017) “Proximate composition, amino and fatty acid profiles and element compositions of four different *Moringa* species”. Journal of Agricultural Science; 9(7): 46-57. <https://doi.org/10.5539/jas.v9n7p46>
- Stone M., Martyn L., Weaver C. (2016) “Potassium intake, bioavailability, hypertension, and glucose control“. Nutrients; 8(7):444. <https://doi.org/10.3390/nu8070444>
- Suszek F., Sampaio S., Lima V. (2019) “Controle estatístico de qualidade da condutividade hidráulica em Luvisso e Neossolo com variação da densidade do solo”. Irriga, Platform & Workflow by OJS/PAK; 24(1): 16-24. <https://doi.org/10.15809/irriga.2019v24n1p16-24>
- Tesfay S., Modi A., Mohammed F. (2016) “The effect of temperature in *Moringa* seed phytochemical compounds and carbohydrate mobilization”. South African Journal of Botany; 102:190-196. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.07.003>

<https://www.weatheronline.pt/weather/maps/city> [acedido em dezembro 2019]

- Valdivieso-Ugarte M., Gomez-Llorente C., Plaza-Díaz J., Gil A. (2019) “Antimicrobial, antioxidante, and immunomodulatory properties of essential oils: A systematic review”. *Nutrients*;11(11): 2786. <https://doi.org/10.3390/nu11112786>
- Vats S., Gupta T. (2017) “Evaluation of bioactive compounds and antioxidante potential of hydroethanolic extract of *Moringa oleifera* Lam. from Rajasthan, India”. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(1): 239-248. <https://doi.org/10.1007/s12298-016-0407-6>
- Vinoth B., Manivasagaperumal R., Balamurugan S. (2012) “Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Moringa oleifera* Lam”. *International Journal of Research in Biological Sciences*; 2(3): 98-102
- Vitha M. (2015) “Total reflection X-ray fluorescence analysis and related methods”. John Wiley & Sons. ISBN: 978-1-118-46027-6
- Young I., Parker H., Rangan A., Prvan T., Cook R., Donges C., Steinbeck K., O’Dwyer N., Cheng H., Franklin J., O’Connor H. (2018) “Association between haem and non-haem iron intake and serum ferritin in Healthy young women”. *Nutrients*; 10(1): 81. <https://doi.org/10.3390/nu10010081>
- Zaku S., Emmanuel S., Tukur A., Kabir A. (2015) “*Moringa oleifera*: Na underutilized tree in Nigeria whith amazing versatility: A review”. *African Journal of Food Science*; 9(9): 456-461. <https://doi.org/10.5897/AJFS2015.1346>
- Zhao S., Zhang D. (2013) “Supercritical fluid extraction and characterisation of *Moringa oleifera* leaves oil”. *Separation and Purification Technology*; 118: 497-502. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.07.046>

ANEXOS

Anexo 2

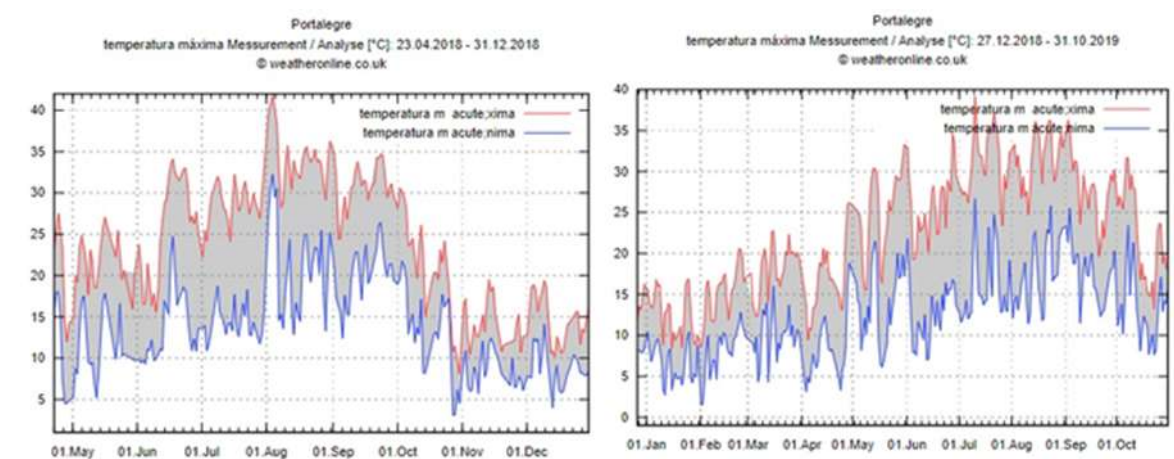


Fig. a 2.1- Registo da amplitude térmica entre abril 2018 e outubro de 2019, no distrito de Portalegre.

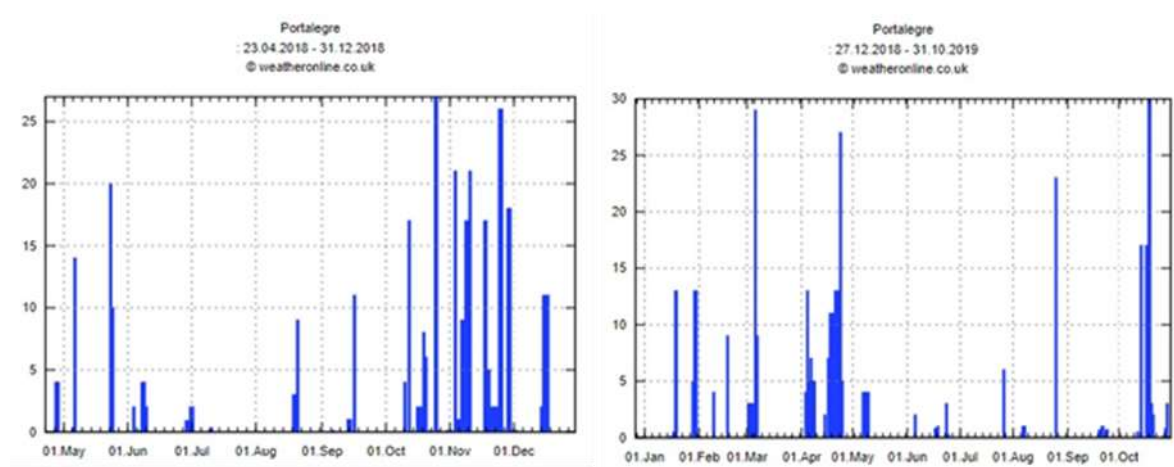


Fig. a 2.2 – Registo da precipitação entre abril de 2018 e outubro de 2019, no distrito de Portalegre.

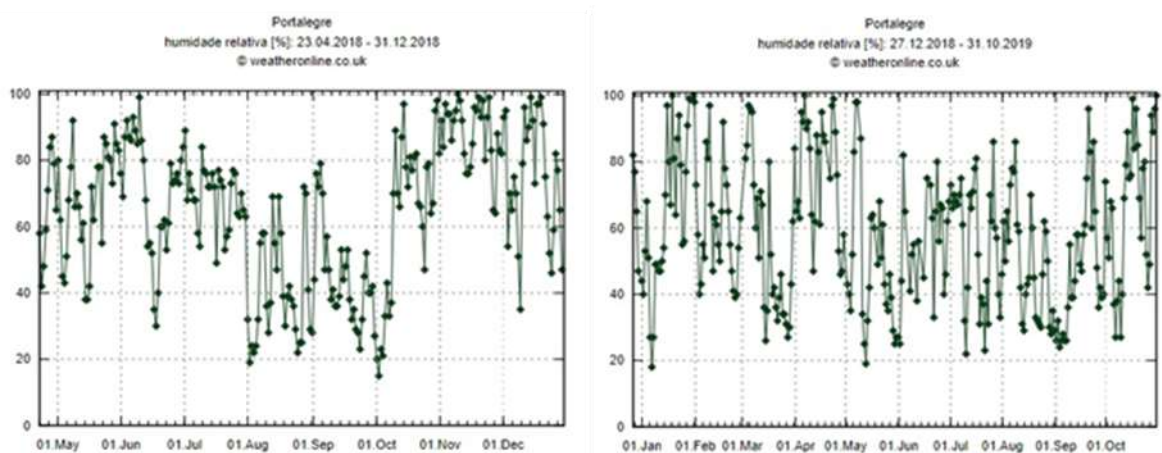


Fig. a 2.3 – Registo da humidade relativa entre abril de 2018 e outubro de 2019, no distrito de Portalegre.


Guia de remessa		é 01.11.2017 / is
		NO 17/199
Material	Moringa Sementes, PKM 1, varie	
Lote	2 Kilo	
	<ul style="list-style-type: none"> • Nome: Moringa Oleifera PKM1 Seeds • Origem: Brasil • Conteúdo de óleo: + 37% • Coração: PKM1 • Estado: Natural • Uso primário: Replantamento / extração de óleo 	
ALIMENTO E / PRODUTO E FARMACÊUTICO E		
Origem	Planta Moringa City, Matoás, Piauí, Brasil	
Fornecedor	Planta Matoas Moringa & Organicos,	
CNPJ	04.773.621/0001-32(Est)	
Endereço	Rua Patrício da Costa Oliveira 144 José de Freitas Piauí Brasil	
Situação Cadastral	Ativa desde Maio / 2015	
Atividade Econômica Principal	Atividades de Apoio à Produção Florestal	
	<ul style="list-style-type: none"> • Produção de sementes certificadas, exceto de forrageiras para pasto • Produção de mudas e outras formas de propagação vegetal, certificadas • Cultivo de mudas em viveiros florestais • Cultivo de legumes orgânicos • Extração de madeira em florestas plantadas • Conservação de florestas nativas 	
Clearinghouse disposition Switzerland		
Villa Come Back International Ivo Schildknecht Dornacherstrasse 3 CH 6003 Luzern +41 78 915 11 77 info@villacomeback.com		
		
Ivo Schildknecht		Luzern, 02. November 2017

Fig. a 2.4- Documento de certificação das sementes de *Moringa oleifera*, referente à aquisição das sementes para plantação na estufa.



Figura a 2.5 – Fotografias referentes à localização dos 5 pontos e as coordenadas GPS, onde se recolheram amostras para análise.

Tabela a 2.1 – Análise prévia à água para rega utilizada no sistema gota-a-gota implementado na estufa realizada em novembro de 2017.

BOLETIM DE ANÁLISES

ÁGUAS PARA REGA



Código de amostra: W061117001

Cliente: João Carlos Galamba Baião

Local de colheita: Herdade Chão de Freixo EN 245

Freguesia: Sousel

Concelho: Portalegre

Parâmetro / Método	Resultado	Interpretação	VMR ^(a)	VMA ^(b)	
pH	7,4 ± 0,1	Bom	6,5 a 8,4	4,5 a 9,0	
Método interno por potencimetria					
Condutividade eléctrica	633 ± 2 µS/cm	Bom	1000	3000	µS/cm
Método interno por condutimetria					
Nitrato	140,0 ± 0,2 mg/L	Elevado	50,0	-	mg/L
Método interno por potencimetria					
Cloreto	16,7 ± 0,1 mg/L	Bom	70,0	-	mg/L
Método interno por potencimetria					
Dureza	219,3 ± 0,2 mg /L (CaCO ₃)	Água pouca dura	-	-	
Método interno por ICP-AES					
Cálcio	65,1 ± 0,0 mg /L	-	-	-	
Método interno por ICP-AES					
Magnésio	13,8 ± 0,0 mg /L	-	-	-	
Método interno por ICP-AES					
Sódio	27,3 ± 0,0 mg /L	-	-	-	
Método interno por ICP-AES					
Ferro	0,00 ± 0,00 mg/L	Bom	5,00	-	mg/L
Método interno por ICP-AES					
Manganês	< 0,005 mg / L	Bom	0,2	10,0	mg/L
Método interno por ICP-AES					
Boro	< 0,002 mg / L	Bom	0,30	3,75	mg/L
Método interno por ICP-AES					
Alumínio	< 0,006 mg / L	Bom	5,0	20,0	mg/L
Método interno por ICP-AES					
Sulfato	26,2 ± 0,2 mg/L	Bom	575	-	mg/L
Método interno por ICP-AES					
Bicarbonatos	286,0 ± 0,8 mg/L	Aceitável	90	520	mg/L
Método interno por titulação					
Razão de adsorção de sódio ajustado	1,64 ± 0,03	Bom	-	-	
Método interno por ICP-AES / titulação					
Sólidos em suspensão	< 60 mg/L	Bom	60		mg/L
Método interno por filtração					

a) Valor máximo recomendado no DL nº236/1998

b) Valor máximo admissível no DL nº236/1998

Tabela a 2.2 – Análise prévia à composição do solo realizada em novembro de 2017.

BOLETIM DE ANÁLISES

TERRAS

CÓDIGO DE AMOSTRA: S11170077

CLIENTE: João Carlos Galamba Baião

CAMPO / PARCELA: Herdade Chão de Freixo - Parcela

FREGUESIA: -

CONCELHO: Sousel

CULTURA: Moringa

FAIXA DE pH MAIS FAVORÁVEL: 6,0 - 6,5

PRODUÇÃO ESPERADA: -

TEXTURA DO SOLO: Argilosa

OBSERVAÇÕES: As amostras foram preparadas consoante a norma ISO 11464:2006.

Os resultados obtidos referem-se apenas às amostras analisadas.



Parâmetro / Método	Resultado	Interpretação	Correctivo a aplicar / Comentários
pH (H ₂ O)	6,91 ± 0,01	Neutro	-
ISO 10390:2005 / Potenciometria			
Necessidade de Calcário			
Cálculo / Volumetria			
pH (CaCl ₂)	6,47 ± 0,01	Ligeiramente ácido	-
ISO 10390:2005 / Potenciometria			
Condutividade eléctrica	243 ± 2 µS/cm	Não salino	
ISO 11265:1994 / Condutimetria			
Matéria orgânica	3,17 ± 0,01 %	Médio	20 t/ha
Cálculo (H ₂ O = C _{org} × 1,724)			Estume de bovino tem curtido
Carbono orgânico	1,84 ± 0,04 %		-
prEN 15936:2009 / Condutimetria			
Azoto total	0,15 ± 0,02 %	Médio	270 kg/ha N
NI 13654-2:2001 / Condutimetria			
Razão Carbono : Azoto	12,3	Normal	Condições favoráveis para a mineralização do azoto
Cálculo			
Fósforo (P ₂ O ₅)	44,0 ± 0,4 mg/kg	Muito baixo	400 kg/ha P ₂ O ₅
ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3			
Potássio(K ₂ O)	78,2 ± 1,3 mg/kg	Alto	150 kg/ha K ₂ O
ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3			
Cálcio (CaO)	3705,8 ± 0,9 mg/kg	Excesso	
ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3			
Magnésio (MgO)	718,0 ± 0,4 mg/kg	Excesso	0 kg/ha MgO
ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3			
Enxofre	4,5 ± 0,1 mg/kg	Baixo	
ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3			
Ferro	95,5 ± 0,1 mg/kg	Alto	0 kg/ha Ferro
ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3			
Manganês	565,2 ± 0,0 MnAl	Excesso	0 kg/ha Manganês
ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3			
Boro	1,15 ± 0,00 mg/kg	Alto	1 - 3 kg/ha Boro
ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3			
Cobre	2,1 ± 0,1 mg/kg	Alto	0 kg/ha Cobre
ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3			
Zinco	1,5 ± 0,2 mg/kg	Alto	0 kg/ha Zinco
ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3			
Molibdénio	<0,03 mg/kg (Limite de detecção)	Baixo	100 g/ha Molibdénio
ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3			
Sódio	32,4 ± 0,1 mg/kg		
ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3			
Capacidade de troca catiónica (CTC)	15,2 ± 0,1 cmol ⁺ /kg	Média	-
ISO 23470:2007			
Basas de troca	Potássio 0,22 ± 0,04 cmol ⁺ /kg	Baixo	
	Magnésio 3,70 ± 0,00 cmol ⁺ /kg	Alto	
ISO 23470:2007	Cálcio 11,1 ± 0,0 cmol ⁺ /kg	Alto	
	Sódio 0,20 ± 0,00 cmol ⁺ /kg	Baixo	
Grau de saturação em bases (GSB)	100 %	Muito alta	-
Relação Cálcio / Magnésio	3,0	Média	Adequada
Relação Magnésio / Potássio	16,5	Muito alta	Muito desfavorável para a nutrição da planta em K
Pesquisa de carbonatos	Negativa		
Executado quando pH(CaCl ₂) > 6,5 conforme ISO10694:1995			
Carbono inorgânico / Calcário total			
prEN 15936:2009 / Condutimetria			
Calcário activo			
Método de Drouineu			

Tabela a 2.3 – Interpretação dos resultados das análise prévias ao solo em 2017.

